



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

“AISLAMIENTO DE METABOLITOS A PARTIR DEL FRUTO DE *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav”

Línea de investigación:

Botánica y productos naturales

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Química

Autora:

Sayes Reátegui, Carolina Ginett

Asesora:

Herrera Hernández, Nora Gabriela

(ORCID: 0000-0003-0595-8747)

Asesor externo:

Areche Medina, Carlos Alberto

(ORCID: 0000-0001-5246-1368)

Jurado:

Salvador Salazar, Martha

Lezama Vigo, Helmer Heli

Castañeda Pérez, Luz Genara

Lima – Perú

2022

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi agradecimiento al Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (CONCYTEC), quienes hicieron posible el financiamiento de esta investigación con el número de contrato: 397 – 2019 – FONDECYT. A la Universidad Nacional Federico Villarreal, mi alma mater, por abrirme las puertas a un nuevo mundo lleno de oportunidades y permitirme alcanzar este importante logro en mi vida estudiantil.

Agradezco profundamente a mi asesora interna, Mg. Nora Herrera Hernández, por darme la oportunidad de realizar investigación, por su apoyo, comprensión, motivación y orientación durante la realización de la presente investigación. A mi asesor externo, Dr. Carlos Areche, por su colaboración, orientación, apoyo y gran hospitalidad durante la pasantía que realicé en la Universidad de Chile, Chile para culminar la investigación.

A la Sra. Patricia Selis Portella, por brindarme su apoyo, su amistad y a quien agradezco su consideración y sus consejos. A Verónica Carvajal Nanjarí y Patricio Romero Rojas, increíbles personas que me recibieron con mucha hospitalidad y me enseñaron con gran amabilidad, con quienes compartí en la Universidad de Chile. A Emily Huarote, por animarme a ir por el camino de la investigación y animarme a asumir nuevas metas. A Andrea Ovalle, por sostenerme cuando quería rendirme y darme palabras de ánimo, a quien considero una hermana y siempre ha estado ahí para mí.

A mis padres, que siempre me han apoyado y que creen en mí, por motivarme y ayudarme a cumplir mis sueños, nunca podre agradecerles lo suficiente, por último, a quien ha estado ahí en cada noche de estudio, cada día estresante y cada madrugada agotadora, que sin hablar podía reconfortar mi corazón afligido y despejar mi mente para seguir adelante, gracias Minzy.

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a los dos grandes pilares de mi vida, mis padres, Yaks Sayes Ponce y Aida Reátegui de Sayes, a quienes les debo todo lo que soy, por apoyarme incondicionalmente, creer en mí, por siempre estar conmigo y ayudarme a realizar cada uno de mis sueños.

A mi abuela, María Ponce, por siempre pensar en mi en sus oraciones y velar por mi desde que tengo memoria. A mi abuelita, Juliana Portocarrero, por confiarme el sueño de que algún día yo podré ser la profesional y una buena profesora, como ella siempre estuvo segura de que sería.

A la Mg. Nora Herrera Hernández, quién me apoyo desde el inicio, me brindo su confianza y una maravillosa oportunidad, lo cual me permitió crecer personal y profesionalmente. A quien le guardo inmenso cariño y un profundo respeto.

A cada uno de los profesores de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal pertenecientes a la escuela profesional de Química, por contribuir en mi formación académica y crecimiento personal.

A mis amigas, Andrea Ovalle y Emily Huarote, por demostrarme que la verdadera amistad es aquella que está contigo en los momentos felices, pero sobre todo en los momentos difíciles, por aconsejarme en momentos de adversidad, guiarme en momentos de dificultad y reírse conmigo desde el fondo de su corazón.

Finalmente le dedicó este trabajo una persona muy especial para mí, Grover Sayes, mi abuelo, aunque no estuvo conmigo en gran parte de mi vida, sé que de donde esta se siente orgulloso de mis logros.

ÍNDICE

Contenido	
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	3
1.2. Antecedentes.....	7
1.3. Objetivos.....	13
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	13
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	13
1.4. Justificación.....	14
1.5. Hipótesis.....	17
1.5.1. <i>Hipótesis general</i>	17
1.5.2. <i>Hipótesis específicas</i>	17
II. MARCO TEÓRICO	18
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	18
2.1.1. <i>Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.</i>	18
2.1.2. <i>Metabolitos secundarios encontrados en el género Solanum.</i>	22
III. MÉTODO	36
3.1. Tipo de Investigación.....	36
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	36
3.3. Variables.....	36
3.4. Población y muestra.....	36
3.5. Instrumentos.....	37
3.6. Procedimientos.....	38
3.6.1. <i>Obtención de la droga vegetal a partir de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.</i>	38
3.6.2. <i>Extracción de la droga vegetal proveniente de Solanum grandiflorum</i>	44
3.6.3. <i>Metodología I</i>	46
3.6.3.1. <i>Cromatografía en capa fina (TLC) preliminar.</i>	46
3.6.3.3. <i>Fraccionamiento de extracto EA de semillas</i>	50
3.6.4. <i>Metodología II</i>	53
3.6.4.1. <i>Tratamiento de extractos de semillas y cáscaras de frutos verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.</i>	53
3.6.4.2. <i>Fraccionamiento por cromatografía del extracto EA de semillas de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.</i>	54

3.6.4.3. Fraccionamiento por cromatografía del extracto EA de cáscara del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	56
3.6.4.6. Análisis por UHPLC-MS-MS del extracto de EA de las cáscaras del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	59
IV. RESULTADOS	60
4.1. Pesos de los extractos obtenidos a partir de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	61
4.2. Tamizaje fitoquímico	61
4.3. Metodología I.....	64
4.3.1. Cromatografía en capa fina (TLC) preliminar a EP, EC, EA y EE de las semillas de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	64
4.3.2. Cromatografía en capa fina a EP, EC, EA y EE de las cáscaras de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	67
4.3.4. Cromatografía en columna de silicagel a la sub-fracción Cs2 obtenida a partir de EA – S de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	70
4.4. Metodología II	82
4.4.1. Fraccionamiento de extracto EA de semillas de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav	82
A. Cromatografía de exclusión molecular.	82
B. Fraccionamiento de SE – 2 por cromatografía de exclusión molecular.....	86
C. Análisis por RMN ¹ H.	87
4.4.2. Cromatografía del extracto EA de cáscaras de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav	88
A. Cromatografía de exclusión molecular..	88
B. Cromatografía en columna al vacío de CE –1.....	89
C. Análisis por RMN ¹ H.	91
4.4.3. Cromatografía del extracto EC de cáscaras de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav	92
A. Cromatografía de exclusión molecular.	92
B. Cromatografía de columna al vacío de CE – 2.....	94
C. Análisis por RMN ¹ H.	96
4.5. Análisis de EA de cáscara verde en UHPLC-MS-MS.....	98
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	124
VI. CONCLUSIONES	131
VII. RECOMENDACIONES.....	133
VIII. REFERENCIAS	134
IX. ANEXOS	148
Anexo A: Constancia taxonómica de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav	148

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav (Backbone Taxonomy, 2019).....	18
Tabla 2 Reconocimiento de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de <i>S. grandiflorum</i> Ruiz & Pav (Cristina & Lima, 2016; Rodrigues, 2014).	21
Tabla 3 Materiales, equipos y reactivos utilizados en el proyecto de investigación.	37
Tabla 4 Fases móviles utilizadas en TLC para seleccionar extractos de semilla y cáscara.	46
Tabla 5 Fase móvil utilizada en la CC del extracto EC de semillas	48
Tabla 6 Fase móvil utilizada en las TLC de los eluatos obtenidos de la CC del EC.	49
Tabla 7 Sub-fracciones a partir del extracto clorofórmico EC	49
Tabla 8 Fase móvil utilizada en la CC del EA de semillas	50
Tabla 9 Fase móvil utilizada en la CC de Cs ₂	51
Tabla 10 Fase móvil utilizada en las TLC de los eluatos obtenidos de Cs ₂	52
Tabla 11 Sub-fracciones a partir de eluatos obtenidos de Cs ₂	52
Tabla 12 Elusión en gradiente para el fraccionamiento con gel de sílice en SE - 2..	55
Tabla 13 Fase móvil en gradiente para la separación con gel de sílice de CE - 1	58
Tabla 14 Fase móvil para el análisis de EA obtenido de cáscara del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	59
Tabla 15 Pesos de los extractos EP, EC, EA y EE a partir de semillas de <i>Solanum grandiflorum</i>	61
Tabla 16 Pesos de los extractos EP, EC, EA y EE a partir de cáscaras de <i>Solanum grandiflorum</i>	61

Tabla 17 Análisis fitoquímico de semillas, pulpa y cáscara del fruto verde <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav redissuelto en metanol.	62
Tabla 18 Análisis fitoquímico de hojas, semillas, pulpa y cáscaras del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav redissuelto en agua.	62
Tabla 19 Reacción de Liebermann – Burchard en extractos de semillas y cáscaras del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav.	63
Tabla 20 Fracciones obtenidas a partir de EC-S de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	75
Tabla 21 Fracciones obtenidas a partir de EA-S de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	76
Tabla 22 Sub-fracciones obtenidas a partir de Cs2 del extracto EA-S.	76
Tabla 23 Rf de los grupos 1 y 2 obtenidos.	78
Tabla 24 Tabla de señales en los espectros de RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.1}	80
Tabla 25 Tabla de señales en los espectros de RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.2}	80
Tabla 26 Desplazamientos (ppm) en RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.3}	81
Tabla 27 Tabla de señales en los espectros de RMN ¹ H de la sub-fracción SE – 2.1	87
Tabla 28 Tabla de señales en los espectros de RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 2.197	
Tabla 29 Compuestos fenólicos identificados en el análisis UHPLC.	123

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Flores de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav (Backbone Taxonomy, 2019).	19
Figura 2 Fruto, hojas y flores de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	19
Figura 3 Distribución de la especie <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav a nivel mundial (Backbone Taxonomy, 2019).....	20
Figura 4 Clases y subclases de metabolitos aislados del género <i>Solanum</i> (Barros et al., 2018).	22
Figura 5 Estructuras químicas de glicoalcaloides esteroidales (SGA) presentes en diferentes especies del género <i>Solanum</i> (Zhao et al., 2021).....	23
Figura 6 Estructuras de diferentes flavonoides aglicónicos (M. Kumar et al., 2021)	24
Figura 7 Esquema de la clasificación general de los compuestos fenólicos.....	26
Figura 8 Ruta biogénica de algunos compuestos fenólicos (Lock, 2016)	27
Figura 9 Estructura de ácidos fenólicos (Lock, 2016).	29
Figura 10 Estructura del isopreno (Lock, 2016)	30
Figura 11 Biosíntesis de terpenoides (Lock, 2016).	31
Figura 12 Núcleos triterpénicos más comunes (Dev & Nagasampagi, 2018).	33
Figura 13 Metodología utilizada para la investigación.....	38
Figura 14 Hojas, flor y fruto de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav.	39
Figura 15 Frutos verdes de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav.....	39
Figura 16 Limpieza y desinfección de frutos verdes de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav	40
Figura 17 Separación de semillas de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	40
Figura 18 Cáscaras de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	41
Figura 19 Molienda de cáscaras secas de la especie <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	42

Figura 20 Cáscaras totalmente molidas de frutos verdes de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	42
Figura 21 Semillas de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	43
Figura 22 Extractos de hojas (A), pulpa (B), semillas (C) y cáscaras verdes (D) obtenidos a partir de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.	43
Figura 23 Extracción por ultrasonido con solventes de polaridad creciente	44
Figura 24 Filtración de EA de cáscara verde (A) y semillas (B) del fruto de <i>Solanum grandiflorum</i>	45
Figura 25 Extracto seco de EA de cáscara (A) y extracto seco de EA de semilla (B) de <i>Solanum grandiflorum</i>	45
Figura 26 EC (A) y EA (B), secos de semilla del fruto de <i>Solanum grandiflorum</i> .	47
Figura 27 Columna cromatográfica con silicagel y EC de las semillas de <i>Solanum grandiflorum</i>	48
Figura 28 Extracto de pulpa redisuelto en agua (A): reacción de Shinoda, Baljet, espuma y tricloruro férrico. Extracto de pulpa redisuelto en metanol (B): Shinoda, Baljet, hidróxido de amonio y tricloruro férrico.....	63
Figura 29 Reacción de Liebermann – Burchard para extracto de éter de petróleo (A), cloroformo (B), acetato de etilo (C) y etanol (D) de semillas del fruto verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruíz & Pav.....	64
Figura 30 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [3:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm	65
Figura 31 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm	65

Figura 32 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm	66
Figura 33 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9.5:0.5] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	66
Figura 34 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	67
Figura 35 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:3] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	68
Figura 36 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9:1] con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	68
Figura 37 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [8.5:1.5] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	69
Figura 38 TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [4:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.	69
Figura 39 TLC de eluatos 15 a 30, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.....	70
Figura 40 TLC de eluatos 15 a 30, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm	71

Figura 41 TLC de eluatos 30 a 45, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.....	71
Figura 42 TLC de eluatos 30 a 45, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm	72
Figura 43 TLC de eluatos 45 a 60, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.....	72
Figura 44 TLC de eluatos 45 a 60, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm	73
Figura 45 TLC de eluatos 60 a 75, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.....	73
Figura 46 TLC de eluatos 60 a 75, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm	74
Figura 47 TLC de eluatos 75 a 90, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.....	74
Figura 48 TLC de eluatos 75 a 90, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm.	75
Figura 49 TLC de sub-fracciones Cs2.1, Cs2.2, Cs2.3 y Cs2.4 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	77
Figura 50 TLC de sub-fracciones Cs2.1, Cs2.2, Cs2.3 y Cs2.4 en lámpara UV a 254 nm.	77
Figura 51 TLC de sub-fracciones Cs _{2.1} , Cs _{2.2} , Cs _{2.3} y Cs _{2.4} en lámpara UV a 365 nm.	78
Figura 52 Espectro de RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.1}	79
Figura 53 Espectro de RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.2}	79
Figura 54 Espectro de RMN ¹ H de la sub-fracción Cs _{2.3}	81
Figura 55 TLC de eluatos 10 al 19 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	82

Figura 56 TLC de eluatos 10 al 19 en lámpara UV a 254 nm.	83
Figura 57 TLC de eluatos 10 al 19 en lámpara UV a 365 nm.	83
Figura 58 TLC de eluatos 30 al 40 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	84
Figura 59 TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 254 nm.	84
Figura 60 TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 365 nm.	85
Figura 61 TLC de eluatos 40 al 46 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	85
Figura 62 TLC de eluatos 1 al 90 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	86
Figura 63 TLC de sub – fracciones de acetato 100% y metanol 100% con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.	86
Figura 64 Espectro de RMN ¹ H de la sub-fracción SE – 2.1.....	87
Figura 65 TLC de eluatos 30 al 40 sin revelar.....	88
Figura 66 TLC de eluatos.30 al 40 en lámpara UV a 254 nm.	88
Figura 67 TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 365 nm.	89
Figura 68 TLC de eluatos 40 al 50 en lámpara UV a 365 nm.	89
Figura 69 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.	90
Figura 70 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 a lámpara UV a 254 nm.	90
Figura 71 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 a lámpara UV a 365 nm.	90
Figura 72 Espectro RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 1.1	91
Figura 73 Espectro RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 1.2.....	92
Figura 74 Espectro RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 1.3.....	92
Figura 75 TLC de eluatos 55 al 65 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol.....	93
Figura 76 TLC de eluatos 55 al 65 en lámpara UV a 254 nm.	94

Figura 77 TLC de eluatos 55 al 65 en lámpara UV a 365 nm.	94
Figura 78 TLC de eluatos 65 al 70 en lámpara UV a 365 nm.	94
Figura 79 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 con revelador H ₂ SO ₄ al 5% - metanol	95
Figura 80 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 en lámpara UV a 254 nm.	95
Figura 81 TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 en lámpara UV a 365 nm.	96
Figura 82 Espectro RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 2.1	96
Figura 83 Espectro RMN ¹ H de la sub-fracción CE – 2.2	97
Figura 84 Cromatograma obtenido del EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.....	98
Figura 85 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido siríngico -1.	99
Figura 86 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido siríngico -2.	101
Figura 87 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido ferúlico -1.....	103
Figura 88 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido ferúlico -2.....	105
Figura 89 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido cafeíco-1.....	107
Figura 90 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido cafeíco -2.....	109

Figura 91 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido cumárico -1.	111
Figura 92 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido cumárico -2.	113
Figura 93 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido abscísico -1.	115
Figura 94 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de ácido abscísico -2.	117
Figura 95 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de Luteolina-2.	119
Figura 96 Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de <i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav con el estándar de Isorhamnetina -1.	121
Figura 97 Estructura de ácido oleico identificado a partir de la sub-fracción Cs _{2.2} .	125
Figura 98 Estructura esterificada del ácido linoleico identificado a partir de la sub-fracción SE – 2.1.	128
Figura 99 Estructura del glicerol (A) y de triacilglicerol (B)	128

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue aislar metabolitos a partir de frutos verdes de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav obtenidos del centro de investigación IVITA-PUCALLPA, ubicado en Coronel Portillo, Ucayali. La investigación fue experimental. Se utilizó polvo seco de cáscaras (C) y semillas (S), se realizaron extracciones sucesivas con éter de petróleo (EP), cloroformo (EC), acetato de etilo (EA) y etanol (EE) por ultrasonido. Por análisis fitoquímico se identificaron compuestos fenólicos, terpenoides, saponinas y flavonoides en EP, EC y EA. A partir de EA de semillas se fraccionó por exclusión molecular con Sephadex LH-20 y éter de petróleo – diclorometano – metanol [3:2:1] como fase móvil, se obtuvieron las fracciones SE – 1 y SE – 2, esta última fracción dio la sub-fracción SE – 2.1. Los EA y EC obtenidos de cáscaras se fraccionaron también con Sephadex LH-20 y metanol obteniendo las fracciones CE – 1 y CE – 2 respectivamente. A partir de CE – 1 se obtuvieron las sub-fracciones: CE – 1.1 (26.2 mg), CE – 1.2 (62 mg), y CE – 1.3 (40 mg). A partir de CE – 2, se obtuvieron, CE – 2.1 (19.7 mg) y CE – 2.2 (21.1 mg), las sub-fracciones fueron analizadas por RMN ¹H. Se logró identificar por primera vez ácido oleico y triacilglicerol compuesto por ácido linoleico en semillas, y compuestos fenólicos como ácido cafeico, ácido sirínico, ácido ferúlico y ácido cumárico en cáscaras de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. contribuyendo a la química del género *Solanum* y a la búsqueda de metabolitos secundarios de importancia en especies endémicas de nuestro país.

Palabras clave: *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, UHPL/MS, RMN ¹H, ultrasonido.

ABSTRACT

The objective of the research was to isolate metabolites from green fruits of *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav obtained from the IVITA-PUCALLPA research center, located in Coronel Portillo, Ucayali. The research was experimental. Dry powder of shells (C) and seeds (S) was used, and successive extractions were carried out with petroleum ether (EP), chloroform (EC), ethyl acetate (EA), and ethanol (EE) by ultrasound. The phytochemical analysis identified phenolic compounds, terpenoids, saponins, and flavonoids in EP, EC, and EA. From EA from seeds, it was fractionated by molecular exclusion with Sephadex LH-20 and petroleum ether - dichloromethane - methanol [3:2:1] as mobile phase, fractions SE - 1 and SE - 2 were obtained, this last fraction gave the sub-fraction SE – 2.1. The EA and EC obtained from the shells were also fractionated with Sephadex LH-20 and methanol, obtaining the fractions CE-1 and CE-2, respectively. From CE – 1 the sub-fractions were obtained: CE – 1.1 (26.2 mg), CE – 1.2 (62 mg), and CE – 1.3 (40 mg). From CE-2, CE-2.1 (19.7 mg) and CE-2.2 (21.1 mg) were obtained, ¹H NMR analyzed the sub-fractions. It was possible to identify for the first-time oleic acid and triacylglycerol composed of linoleic acid in seeds, and phenolic compounds such as caffeic acid, syringic acid, ferulic acid, and coumaric acid in *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav husks. they were contributing to the chemistry of the *Solanum* genus and to the search for important secondary metabolites in endemic species of our country.

Keywords: *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, UHPL/MS, RMN ¹H, ultrasonic assisted.

I. INTRODUCCIÓN

El estudio de productos naturales promueve la investigación de los recursos naturales identificando moléculas (metabolitos primarios y secundarios) que puedan ser utilizadas en diversas áreas como farmacología y nuevos materiales, entre otros.

El Perú es un país megadiverso que alberga plantas endémicas y aquellas que crecen en diversas regiones del continente (Mostacero, 2017); sin embargo, a nivel nacional estos estudios no son fomentados con la importancia que deberían, desaprovechando la riqueza vegetal que tiene el país.

Los extractos provenientes de los productos naturales presentan diferentes metabolitos como alcaloides, terpenos, polifenoles y otros los cuales son conocidos por sus propiedades medicinales como antiinflamatorias (Yang et al., 2020), antitusígenas, antihipertensivas, afecciones a las vías respiratorias, entre otras. En los últimos años, han tomado relevancia como pesticidas naturales, debido a su actividad insecticida (Adeyemi, 2010; Boncan et al., 2020; Rattan, 2010).

La familia *Solanaceae* presenta 3000 especies en 98 géneros. El género *Solanum* es el más representativo (Pereira et al., 2018) e incluye a especies cultivadas de importancia global como el tomate (*S. lycopersicum*), la berenjena (*S. melongena*) y la más representativa de nuestro país: la papa (*S. tuberosum*) (Särkinen et al., 2015).

En *Solanum spp.*, se reportan diversos metabolitos secundarios entre ellos: glicoalcaloides esteroideos biológicamente activos, alcaloides esteroideos, saponinas, esteroides, flavonoides y alcaloides (Al Sinani y Eltayeb, 2017; Barros et al., 2018). Dentro del género *Solanum* se hace mención que *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* contiene taninos, flavonoides, saponinas, alcaloides y esteroides (Rodrigues, 2014).

La presente investigación se basa en el estudio de metabolitos secundarios mayoritarios provenientes de los frutos verdes de la especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav., su aislamiento por técnicas cromatográficas diversas e identificación por UHPLC-Triple Quad-MS-MS y RMN ^1H .

La descripción problemática del estudio se desarrolla en el primer capítulo, detallando los objetivos, justificación e importancia de la investigación. En el segundo capítulo se encuentran las bases teóricas que fundamenta la investigación, dando de la especie vegetal *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, los usos y reportes de trabajos previos, se describe también el género *Solanum*, propiedades y metabolitos secundarios mayoritarios de importancia dentro del género. El tercer capítulo describe toda la metodología realizada, desde la obtención del material vegetal hasta el análisis de datos obtenidos por los diferentes espectros, también se indican los reactivos, materiales y equipos de manera detallada. Finalmente, el cuarto y quinto capítulo describen los resultados, discusión y las conclusiones respectivamente.

1.1. Descripción y formulación del problema

América Latina, África y Asia, albergan los 19 países con megadiversidad, que contienen cerca del 70% de la biodiversidad del planeta (Bravo, 2012) aun cuando sus territorios son tan sólo el 10% de la superficie del planeta (Benítez-Badillo et al., 2010). Entre esos 19 países se encuentra el Perú, considerado un país megadiverso.

Desde la época precolombina, el Perú, por su gran riqueza de flora, ha sido fuente de plantas medicinales (Lock, 2016), esto se debe a que está localizado en la región tropical del globo, por su geografía peculiar es evidente que el medio ambiente natural peruano contiene casi todas las regiones naturales del planeta (Pulgar, 2014) generando una gran biodiversidad que no ha sido estudiada en su mayoría, desaprovechando así un gran potencial medicinal y farmacológico.

La medicina tradicional ha sido y sigue siendo utilizada en todos los países del mundo, en especial en países en vías de desarrollo, donde entre el 70-95% de la población depende de ella (Robinson y Zhang, 2011), sin embargo, no se le ha dado un enfoque adecuado en cuanto a la evaluación de su calidad, seguridad y eficacia basada en la investigación.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (ONUAA) o Food and Agriculture Organization (FAO) (2006) los países latinoamericanos son los que poseen los índices más altos de deforestación (Leguía-Aliaga et al., 2011), esto conlleva a una gran disminución de especies, y con ellas, la pérdida de una potencial fuente de nuevos principios activos. A pesar de que existen leyes en nuestro país para la conservación y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y la diversidad biológica, para el acceso a recursos genéticos y el uso de los conocimientos tradicionales de los pueblos indígenas del Perú, la investigación de los recursos naturales no ha alcanzado el impacto esperado.

El enfoque actual de los productos naturales en el país es de industrialización y exportación de materia prima, y aunque eso significa un gran aumento económico para el país, mejorando su posición de exportador, deja de lado la investigación científica en productos naturales (De la Cruz, 2004; Silva-Montoya, 2017). En el Perú, se estima que existen 25 000 especies de plantas (8% del total mundial) (Mostacero, 2017), sin embargo, menos del 5% han sido estudiadas desde el punto de vista químico y farmacológico (Lock, 2016).

Solanum, es uno de los géneros más grandes entre las plantas y el Perú posee una alta riqueza de especies (Särkinen et al., 2015), sin embargo, dicho estimado solo obedece a estudios realizados en la Costa y los Andes tropicales, dejando de lado así un gran número posible de especies por estudiar en la Amazonía (Roumy et al., 2020; Roumy-Ruiz et al., 2020).

El género *Solanum* presenta una gran variedad de metabolitos secundarios, muy valiosos farmacológicamente entre ellos los triterpenoides, que se han convertido en una de las clases más importantes de productos naturales. Sin embargo, la importancia de los triterpenoides naturales se ha subestimado siendo así muy limitados en las revisiones de productos naturales (Xu et al., 2018) desaprovechando su potencial farmacológico, antibacteriano y pesticida (Li et al., 2015). Otro grupo de igual importancia son los compuestos fenólicos, estos suelen utilizarse como antioxidantes naturales y han demostrado múltiples beneficios para la salud por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antivirales (Silva-Beltrán et al., 2017) e incluso antiparasitarias (Friedman et al., 2018). Lamentablemente la mayoría de los compuestos fenólicos son desaprovechados debido a encontrarse mayormente en subproductos vegetales como cáscaras, las cuales son consideradas desechos en la industria alimentaria (Lima et al., 2021), estos compuestos fenólicos son descartados a pesar de presentar actividad pesticida, como fungicida e insecticida (Joshi et al., 2014; Patzke y Schieber, 2018).

Actualmente es muy importante evitar la infestación y contaminación por insectos de los granos y productos alimenticios durante su almacenamiento, (Quiroz et al., 2015) por esta razón se ha utilizado una gran variedad de insecticidas sintéticos de acción rápida y efecto duradero, para controlar las plagas de insectos (Suri et al., 2015). Se encuentran incluidos plaguicidas organofosforados, carbamatos y piretroides que son utilizados de manera continua; sin embargo, las implicaciones de los residuos de plaguicidas asociados en el medio ambiente y la salud humana han resaltado la necesidad de desarrollar productos químicos menos peligrosos (Nobsathian et al., 2019).

El fracaso de los insecticidas sintéticos para garantizar el control total de las plagas de insectos radica en el desarrollo de resistencia y resurgimiento de estos (Adesina y Rajashekar, 2018), el daño severo causado a la ecología y al medio ambiente, así como a la salud humana, el efecto cancerígeno y la destrucción de los insectos beneficiarios. El nivel de residuos de pesticidas en alimentos ha obligado a la comunidad científica a explorar los productos tradicionales e indígenas abandonados y descuidados que son productos de bajo costo, seguros para el medio ambiente y fácilmente biodegradables como alternativas a los insecticidas sintéticos para combatir las plagas de insectos agrícolas (Adesina y Rajashekar, 2018; Suri et al., 2015).

La búsqueda de nuevas moléculas biológicamente activas como agentes de control para plagas de insectos, hongos, bacterias u otros organismos, sigue siendo una prioridad de investigación global debido a que amenazan una necesidad primordial humana, la alimentación (Quiroz et al., 2015).

La presente investigación propone realizar un estudio de los componentes químicos presentes en la especie *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav*, enfocándose en la obtención de metabolitos secundarios, especialmente la identificación de aquellos con posible actividad plaguicida, con el fin de contribuir al conocimiento científico y la literatura en química.

Planteamiento de Problema

Problema general

¿Se podrán identificar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en los frutos verdes de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav?

Problemas específicos

¿Se lograrán aislar los metabolitos secundarios mayoritarios en el fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. mediante técnicas cromatográficas?

¿Se podrán identificar mediante técnicas hífenadas (UHPLC-Triple Quad-MS-MS) y espectroscópicas como RMN ^1H los posibles metabolitos secundarios presentes en el fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav?

1.2. Antecedentes

Solanum

El género *Solanum* es uno de los que presenta el mayor número de especies, unas 1400 se encuentran distribuidas alrededor de todo el mundo, la mayor parte se encuentra en América Tropical (Anteparra et al., 2010), regiones subtropicales y tropicales de África, Australia y partes de Asia (Kaunda y Zhang, 2019).

En el Perú, el género *Solanum* posee unas 276 especies, 253 son nativas y 23 son introducidas y/o cultivadas (Särkinen et al., 2015). El género *Solanum* presenta una gran diversidad de propiedades, por ello durante los últimos 30 años ha recibido gran atención en estudios químicos y biológicos (Kaunda y Zhang, 2019). Costa-Barros et al., 2018 realizaron una evaluación virtual de metabolitos secundarios del género *Solanum*, el conjunto de datos mostró 734 moléculas, con 421 estructuras químicas diferentes, en 110 especies del género *Solanum*. Estas 421 estructuras fueron clasificadas en 54 clases de metabolitos secundarios, destacándose: glicoalcaloides esteroidales (Al-Sinani y Eltayeb, 2017; Fekry et al., 2019; Sonawane et al., 2018), alcaloides, compuestos fenólicos, lignanos (Feki et al., 2014; Kaunda & Zhang, 2019), aceites y grasas, aminoácidos, saponinas, lactonas, cumarinas y terpenoides (Matsuba et al., 2015; Soto-Vásquez, 2014) todos de gran interés terapéutico y farmacológico.

Solanum grandiflorum

Las primeras publicaciones sobre la especie *Solanum grandiflorum* datan de 1978, 1985 y 1993, donde se comenzaron a investigar sus propiedades botánicas (Kuraishi et al., 1978), siendo de vital importancia en cuanto a alimentación para otras especies animales (Uieda y Vasconcellos-Neto, 1985) y su taxonomía vegetal (Lavania, 1993).

Con el avance de la tecnología se descubrió que posee propiedades medicinales como relajantes, sedantes y antiespasmódicas (Lizcano et al., 2010). También es muy común el uso de almidón de frutos de *S. grandiflorum* para el control de la diabetes (De Angelis Pereira et al., 2003; Pereira et al., 2018). Un estudio del extracto crudo del fruto de *S. grandiflorum*, encontró alcaloides, saponinas (De Angelis Pereira et al., 2003), glicosídicos, cardiotónicos, taninos y triterpenos (Bezerra et al., 2013). La actividad antifúngica del extracto etanólico del fruto de *S. grandiflorum* contra cepas de *Fusarium oxysporum* (Araújo y Lima, 2013) y de *Rhizoctonia solani* (Fonseca et al., 2013; Lima y Ferreira Neto, 2014) dio buenos resultados de inhibición fúngica.

En un estudio realizado en Colombia sobre 19 plantas medicinales provenientes de la Amazonia, se determinó que el extracto crudo de las hojas de *S. grandiflorum* posee actividad antioxidante por su contenido de compuestos polifenólicos y de flavonoides (Lizcano et al., 2010). Posteriormente se determinó que las hojas de *S. grandiflorum* contenían una gran cantidad de ácidos hidroxicinámicos (Lizcano et al., 2012). Finalmente, se evaluó la capacidad hepatoprotectora y el efecto antioxidante del extracto de hojas de *S. grandiflorum* en medio metanólico, dando resultados favorables, lo que sugiere que son una fuente de antioxidantes naturales (Ghassam et al., 2012)

El análisis fitoquímico de las hojas de *S. grandiflorum* identificó alcaloides, glicósidos cardiotónicos, cumarinas volátiles, flavonoides, saponinas, triterpenos y derivados antracénicos, así mismo el extracto etanólico presentó una importante actividad antifúngica frente a *Candida albicans* (Rodrigues, 2014). En líneas más actuales, se realizó un trabajo sobre el uso del extracto de hojas y flores de *S. grandiflorum* para la síntesis de nanopartículas de Ag^0 , utilizando compuestos fenólicos, obteniéndose AgNps de un tamaño menor a 50 nm (Alarcón et al., 2021).

Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal, presentando como propiedad biológica la actividad antioxidante y actividad antimicrobiana (Villa y León, 2016; Zárate-Martínez et al., 2021). Los ácidos fenólicos han ganado relevancia por sus múltiples beneficios a la salud (Kumar y Goel, 2019) y funcionalidades como actividades antioxidantes, antiinflamatorias, inmunorreguladoras, antialérgicas, antimicrobianas, antitrombóticas, cardioprotectoras, anticancerígenas, antidiabéticas (Rashmi y Negi, 2020) y plaguicidas (Joshi et al., 2014; Ren et al., 2020). En los últimos años los ácidos fenólicos se han utilizado para la síntesis de nanopartículas (NP) metálicas, como agentes reductores y estabilizadores en el proceso de síntesis de NP. (Amini y Akbari, 2019).

En el género *Solanum* se detecta la presencia de ácidos fenólicos como ácido clorogénico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácidos ferúlicos (Kaushik, 2019; Kim et al., 2019; Pinela et al., 2019; Singh et al., 2020) estos son derivados del ácido hidroxicinámico (clorogénico, cafeico y ferúlico) y del ácido hidroxibenzoico (gálico, vainillina y p-hidroxil benzoico). Los compuestos fenólicos existen de manera libre (clorogénico y cafeico) o como polisacáridos (ferúlico y p-cumárico) (Singh et al., 2020). Se reportó en cáscara de *S. tuberosum* la presencia de compuestos fenólicos con bioactividad como antioxidantes (Kim et al., 2019) antidiabéticos, hepatoprotectores y antibacterianos. Entre los compuestos reportados se encuentra ácido clorogénico, siendo el mayoritario (Kaushik, 2019), ácido cafeico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico (Singh et al., 2020).

Triterpenos

Los triterpenoides son componentes activos importantes presentes en plantas (Cai et al., 2019) por esa razón existen diversos estudios, siendo uno de los más destacados en el ámbito de la medicina el aislamiento de triterpenos para tratar afecciones del sistema inmunológico

(Ríos, 2010) y se podrían considerar su uso en la quimioprevención y quimioterapia del cáncer (Yadav et al., 2010) inclusive, se han encontrado saponinas triterpenoides con potencial actividad para la quimioprevención del cáncer de mama (Pérez et al., 2017). Así también, se informa sobre su uso como hepatoprotectores (Xu et al., 2018). Uno de los terpenoides más importantes encontrados en el género *Solanum* es el lupeol (Ramos y De Oliveira, 2016) importante por su actividad antiinflamatoria (Liu et al., 2021). Además se siguen reportando nuevos terpenoides como officinoterpenoside E en *Solanum melongena* L (Yang et al., 2018), la importancia de los triterpenoides como insecticidas se ha destacado en los últimos años (Hill y Connolly, 2017) debido a sus propiedades repelentes de insectos como defensas en las plantas (Filho Mendes da Silva et al., 2017).

Actividad pesticida

En especies del género *Solanum* se pueden encontrar monoterpenos y sesquiterpenos volátiles que presentan un papel importante en la interacción con patógenos e insectos herbívoros como defensas naturales (Yang et al., 2021), por ello en los últimos años se han realizado estudios en terpeno sintasa, debido a su función en la síntesis de terpenos, con el fin de investigar posibles fuentes de biopesticidas (Boncan et al., 2020; Celedon y Bohlmann, 2019).

Así como los terpenoides, los ácidos fenólicos también se encuentran destacando en el área insecticida. Un estudio reveló que el ácido siríngico (SA) aporta a la degradación del herbicida ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético (MCPA), los resultados no solo confirmaron una eliminación de MCPA en las muestras enriquecidas con SA en comparación al control, sino, una disminución de la fitotoxicidad (Urbaniak et al., 2019). Luego, se llevó a prueba en suelo contaminado con MCPA y con dos especies cucurbitáceas: calabacín (*C. pepo* L.) y pepino (*C.*

sativus), el resultado de la aplicación de SA es que llega a mitigar la influencia tóxica de MCPA en el suelo, dependiendo de las especies de plantas cultivadas (Mierzejewska et al., 2022).

Por otra parte, se realizó un ensayo usando cinco compuestos fenólicos (florizina, resveratrol, ácido ferúlico, 5-n-alquilresorcinoles y quercetina) como ingredientes activos en la preparación de una emulsión bioactiva donde se identificó al ácido ferúlico como altamente efectivo contra el crecimiento de *Botrytis cinérea* (Patzke y Schieber, 2018). También se reportó que derivados del ácido ferúlico son potenciales antivirales contra el virus del mosaico del tabaco (TMV) (Ren et al., 2020; Tang et al., 2020). Joshi et al., 2014, sugieren al ácido cafeico como molécula insecticida debido a su potente efecto inhibidor de la proteasa intestinal alterando la expresión génica en larvas de *Helicoverpa armígera*. Se evaluó el ácido cafeico en *Spodoptera littoralis*, midiendo los índices de alimentación, los cuales disminuyeron significativamente, reduciendo niveles de alostatina-A y a su vez disminuyendo la producción de α -amilasa y proteasa intestinal (Bahrami et al., 2018).

Se evaluó el extracto de *Myrciaria cauliflor* frente a *S. frugiperda* en estado larvar, se presentó un incremento de la mortalidad del 150% y una disminución de hembras en 55%. Se identificó en el extracto compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido elágico, ácido salicílico y catequina, responsables de actividad (Alves et al., 2014). Marques et al., 2016, realizó un ensayo a partir del extracto de *Malpighia emarginata* en *S. frugiperda*, mostrando signos de inhibición en estado pupal y aumentando la mortalidad en edad adulta, los compuestos responsables fueron identificados como ácido gálico, galato de epigalocatequina, catequina, ácido p-cumárico, ácido salicílico y quercetina.

Se realizó un estudio evaluando compuestos fenólicos y lectinas sobre la actividad enzimática digestiva de *S. litura*. Los resultados mostraron una reducción significativa en actividades de serín proteasa y tripsin esterasa en larvas (Su et al., 2018).

En una investigación reciente, se evaluó la acción del ácido gálico sobre larvas de *Spodoptera litura* F. a diferentes concentraciones con resultados positivos en mortalidad de larvas y reduciendo el índice de emergencia de adultos (Punia et al., 2021). El presente año, se evaluó la actividad insecticida de tres extractos provenientes de *S. graminifolia* en *S. fugiperda* mediante la ingesta en larvas. El extracto etanólico causó mayor mortalidad (81%). Se identificaron en el extracto quercetina, ácido clorogénico, ácido solidagoico, ácido gálico, hexósido y ácido rosmarínico entre otros compuestos fenólicos (Herrera-Mayorga et al., 2022).

1.3. Objetivos

1.3.1. *Objetivo general*

Identificación de metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

1.3.2. *Objetivos específicos*

1. Aislar los metabolitos secundarios mayoritarios en el fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. mediante técnicas cromatográficas.

2. Identificar mediante técnicas hífenadas (UHPLC-Triple Quad-MS-MS) y espectroscópicas como RMN ^1H los posibles metabolitos secundarios presentes en el fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

1.4. Justificación

En la actualidad la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas a partir de plantas es prominente y continúa desempeñando un papel importante (Barros et al., 2018) en diversas áreas como medicina, farmacología, industria agropecuaria, industria alimentaria entre otros (David et al., 2015; Raja et al., 2017; Zhang et al., 2018).

El género *Solanum*, es uno de los más importantes a nivel económico y alimentario de manera global (Silva et al., 2022), siendo incluso estudiada su genómica para la mejora de especies y sus recursos (Vossen et al., 2014). Este género presenta una gran variedad de metabolitos secundarios de gran interés debido a su bioactividad, entre ellas actividades farmacológicas: actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica y antimicrobiana (Barros et al., 2018; Ramos y De Oliveira, 2016).

La agricultura moderna, en los últimos años, enfrenta una crisis ambiental (Nava-Pérez et al., 2012), la presencia de plagas tienen un impacto directo en la producción agrícola de alimentos y productos almacenados, ya que pueden representar la pérdida de producción y en casos severos, la pérdida total (B. Singh & Kaur, 2018). sin embargo, el uso de plaguicidas es cada vez más controlado debido a los daños al medio ambiente y a la salud pública, por esa razón, en los últimos años el estudio de nuevos compuestos de origen vegetal con propiedades insecticidas ha tomado relevancia (Berestetskiy y Hu, 2021).

Las plantas son una gran fuente de metabolitos secundarios que puede utilizarse en el desarrollo de métodos ambientalmente seguros para el control de plagas de insectos y son una verdadera alternativa al insecticida sintético (Adesina y Rajashekar, 2018), esto se debe a que han desarrollado mecanismos de defensa contra sus depredadores, que incluyen insectos patógenos, hongos, bacterias, virus y otros herbívoros (Divekar et al., 2022; Quiroz et al.,

2015). La búsqueda de alternativas para el control de plagas es de gran importancia y se ha comenzado a incluir derivados de plantas para la producción de insecticidas reportando toxicidad para organismos, en especial el efecto antialimentario, que se utiliza para el manejo de cultivos (Melanie et al., 2022), siendo estos más seguros para los humanos y produciendo menos residuos en el medio ambiente en comparación a los pesticidas sintéticos convencionales, dando un enfoque más sostenible (Nobsathian et al., 2019) y amigable con el ambiente, en el control de plagas de insectos (Bonilla et al., 2019) por ese motivo el uso de pesticidas botánicos ya se está dando globalmente (Adesina y Rajashekar, 2018) impactando positivamente en el área de la agricultura y la horticultura modernas (De Geyter et al., 2007).

Uno de los metabolitos secundarios más relevantes son los triterpenoides por poseer diversas propiedades (Xu et al., 2018), como antiinflamatoria, antiviral, antimicrobiana y antitumoral (Anteparra et al., 2018), además, en los últimos años se ha demostrado que presentan actividad plaguicida (Singh y Kaur, 2018) en especial los triterpenos glicosilados que tienen actividad insecticida (Rahimi et al., 2019). Por su parte, los ácidos fenólicos al ser ampliamente distribuidos en el reino Plantae (Villa y León, 2016), forman parte muy importante del sistema de protección de las plantas frente a plagas y son considerados una alternativa natural a los agentes fitosanitarios convencionales (Patzke y Schieber, 2018). En los últimos años han ganado relevancia en el área de la agricultura (Joshi et al., 2014) por ayudar a la degradación de herbicidas (Urbaniak et al., 2019) y a la mitigación de la fitotoxicidad en los cultivos (Mierzejewska et al., 2022). Además, han presentado actividad insecticida con resultados positivos en mortalidad de larvas y reduciendo el índice de emergencia de adultos (Alves et al., 2014; Marques et al., 2016; Punia et al., 2021), debido al efecto antialimentario (Herrera-Mayorga et al., 2022; Su et al., 2018). Por esto, se han comenzado a desarrollar,

mediante nanotecnología, síntesis ecológica de nanopartículas (NP) con ácidos fenólicos por su capacidad antioxidantes y las propiedades plaguicidas mencionadas (Amini y Akbari, 2019).

Este proyecto de investigación tiene como propósito justificar, impulsar y promover el estudio de los metabolitos secundarios provenientes del fruto de la especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, que en la actualidad no posee un estudio profundo a nivel químico, dando a conocer la especie y contribuir al conocimiento en el área de química orgánica, específicamente el área de productos naturales que actualmente en nuestro país es de gran importancia y su realización sería un gran aporte para la literatura química y para futuros estudios en diversas áreas como medicina, farmacología, agricultura entre otros.

1.5. Hipótesis

1.5.1. *Hipótesis general*

El fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. posee metabolitos secundarios de interés biológico.

1.5.2. *Hipótesis específicas*

1.El fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav tiene compuestos fenólicos.

2.Los metabolitos secundarios obtenidos del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav serán identificados mediante técnicas hífenadas (UHPLC-Triple Quad-MS-MS) y espectroscópicas como RMN ¹H.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

La especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav pertenece al género *Solanum*, a la familia *Solanaceae* (Tabla 1) (Chevrette, 2013; Tropicos.org, 2019).

Es un árbol o arbusto (Orozco et al., 2015) de 2,5-10 m de alto, tallo y ramas con pubescencia inconspicua y con escasos acúleos. Hojas de 15-34 × 11,2-25 cm, simples, ovadas, con el margen lobulado, de olor fétido, apariencia negruzca, pubescentes, asimétricas en la base, con acúleos en las venas. Flores (Figura 1) de 25-33 mm de largo. Cáliz castaño claro, de 12-16 mm de largo. Corola rotácea, lila, de 22-35 mm de largo. Anteras amarillas, atenuadas, de 13,5-16 × 1-2 mm, glabras; filamentos estaminales de 1-3 mm de largo. Ovario de 1-3 × 2-3 mm, glabro; estilo de 2-20 mm de largo, glabro; estigma de 0,5 mm de largo, bilobado. Fruto (Figura 2) una baya esférica, amarillo-verdosa cuando madura, glabra, de 30-50 mm de diámetro, pedicelo fructífero muy engrosado. Semillas de 3-4 × 2,5- 3,5 mm (Milagros y Benítrz, 2014), que crece todo el año (Singh, 2016).

Tabla 1

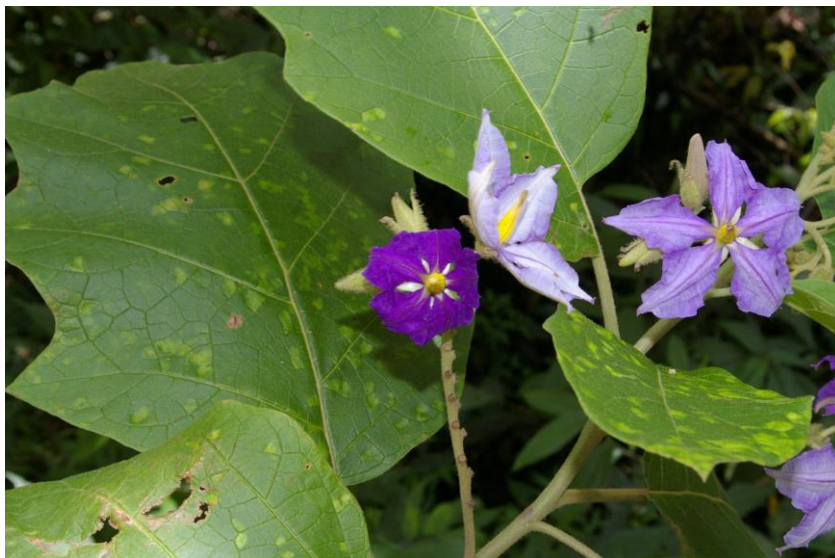
Clasificación taxonómica de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum L.</i>
Especies	<i>Solanum grandiflorum</i> Ruiz & Pav.

Nota. Tomado de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. en GBIF Secretariat, Backbone Taxonomy, 2021, Checklist dataset <https://www.gbif.org/es/species/2929153>.

Figura 1

Flores de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav



Nota: Tomado de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. en GBIF Secretariat, Backbone Taxonomy, 2021, Checklist dataset <https://www.gbif.org/es/species/2929153>.

Figura 2

Fruto, hojas y flores de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.



Nota: Tomado de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. en GBIF Secretariat, Backbone Taxonomy, 2021, Checklist dataset <https://www.gbif.org/es/species/2929153>.

2.1.1.1. Distribución. La especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav se encuentra distribuida en países como Brasil, Colombia, Ecuador y Perú (Figura 3) (Särkinen et al., 2015). Esta especie fue reportada por primera vez en Perú en 1799 (Knapp, 2008). En el Perú, la especie se encuentra distribuida en los departamentos de Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Loreto, Madre de Dios, Pasco, San Martín, Ucayali (Särkinen et al., 2015) y Junín (Zuñe Da Silva, 2016).

Figura 3

Distribución de la especie Solanum grandiflorum Ruiz & Pav a nivel mundial



Nota: Tomado de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. en GBIF Secretariat, Backbone Taxonomy, 2021, Checklist dataset <https://www.gbif.org/es/species/2929153>.

2.1.1.2. Usos. El fruto de la especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav se usa ampliamente en la medicina popular, debido a que se le atribuyen propiedades relajantes, sedantes, antiespasmódicas (De Angelis Pereira et al., 2003) y antiepilépticas (Fonseca et al., 2013). El extracto del fruto presenta actividad antifúngica (Fonseca et al., 2013), al igual que el extracto de hojas (Rodrigues, 2014).

2.1.1.3. Composición. Un análisis fitoquímico en hojas encontró alcaloides, glucósidos cardiotónicos, cumarinas volátiles, flavonoides, saponinas, triterpenos y derivados antracéntricos libres (Tabla 2) (Rodrigues, 2014).

Tabla 2

Reconocimiento de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de S. grandiflorum Ruiz & Pav

Metabolitos secundarios	Presencia / Ausencia	Coloración / Precipitado
Alcaloides	+	Naranja
Glucósidos cardiotónicos	+	Naranja
Cumarinas volátiles	+	Rosa fosforescente
Flavonoides	+	Verde
Taninos	-	Marrón
Saponinas	+	Espuma
Triterpenos y/o Esteroides	+	Marrón
Derivados antracéntricos libres	+	Morado-violeta

Nota: Reactivos utilizados para el análisis fitoquímico: Alcaloides: reactivo de Mayer, reactivo de Wagner y reactivo de Dragendorff.; glucósidos cardiotónicos: reactivo de Kedde, reactivo de Baljet y reactivo de Lieberman; cumarinas volátiles: reacción con hidróxido de amonio; flavonoides: reacción con acetato de plomo; taninos: reacción de cloruro férrico; saponinas: prueba de la espuma; triterpenos y/o esteroides: reactivo de Lierbermann-Buchard; derivados antracéntricos libres: reacción de Bornträger. Adaptado de Cristina y Lima, 2016; Rodrigues, 2014.

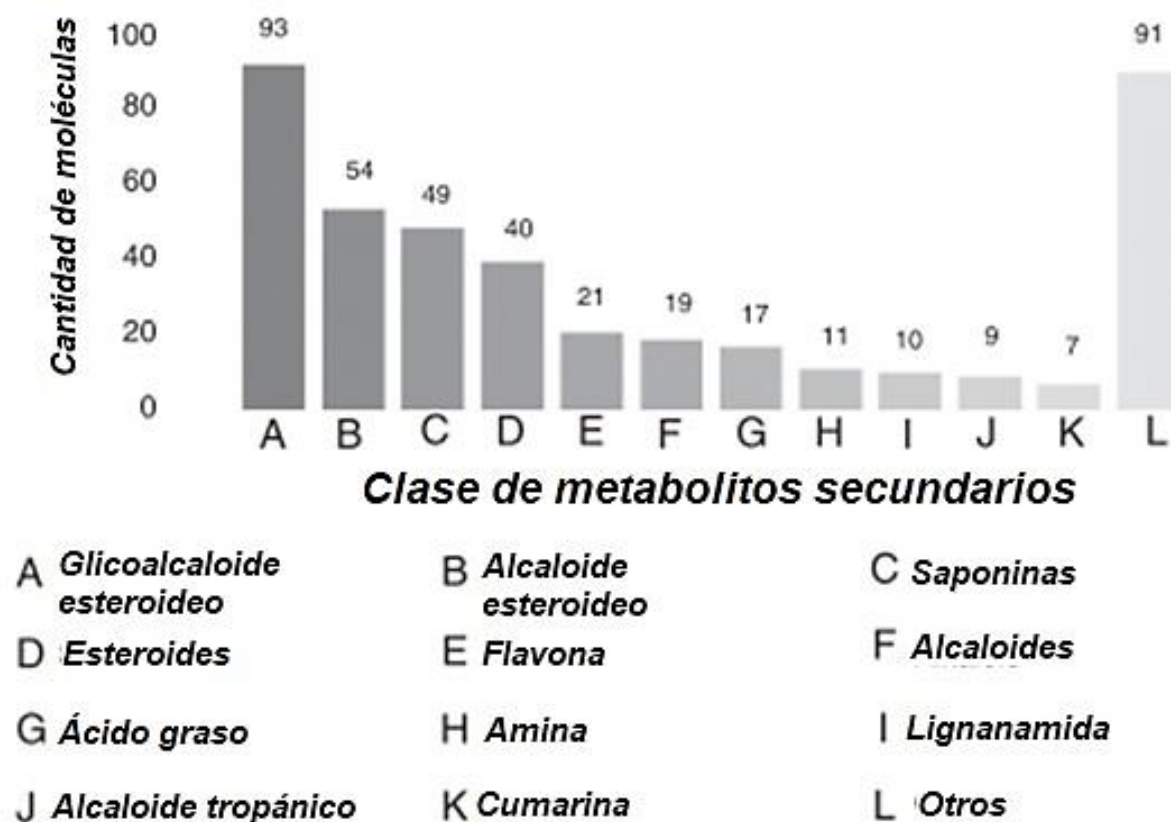
Se realizó también el análisis fitoquímico en fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav donde se encontraron alcaloides, saponinas (De Angelis Pereira et al., 2003), saponinas esteroideas, glicoalcaloides y flavonoides (Fonseca et al., 2013).

2.1.2. Metabolitos secundarios encontrados en el género *Solanum*.

El género *Solanum* puede biosintetizar esteroides y alcaloides libres o glucosilados, flavonoides (Figura 4), que son de interés terapéutico y presentan una gran variedad de actividades farmacológicas, como actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica y antimicrobiana (Barros et al., 2018).

Figura 4

*Clases y subclases de metabolitos aislados del género *Solanum**



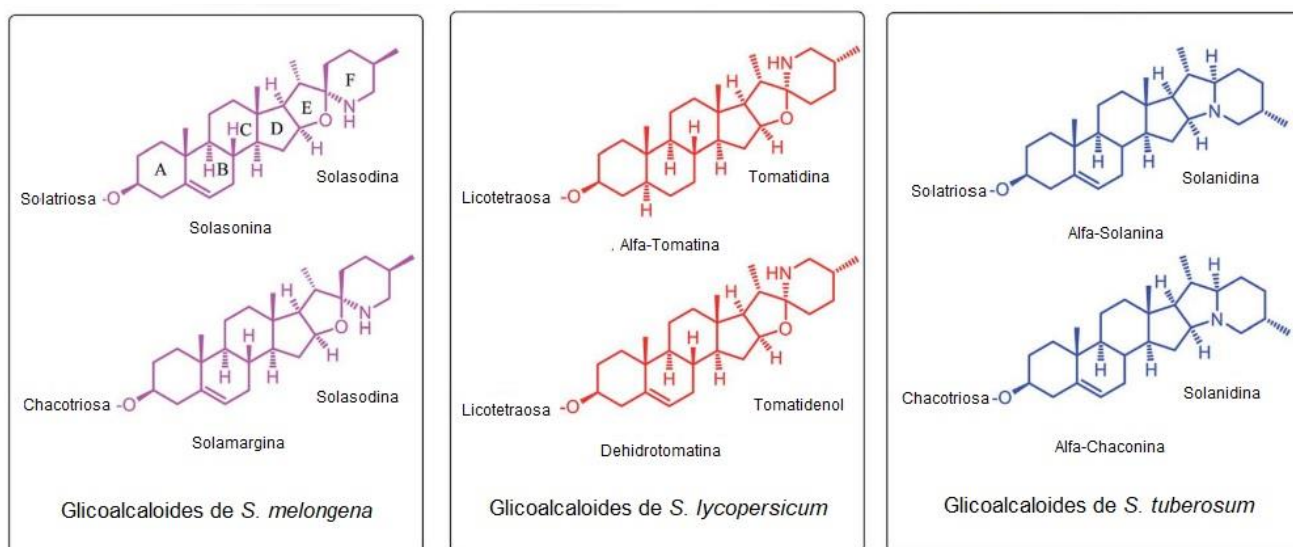
Nota: Tomado de Barros et al., 2018.

Los principales metabolitos secundarios encontrados en el género *Solanum* son: glicoalcaloides esteroidales, alcaloides, saponinas, esteroides, flavonoides, antraquinonas y triterpenos que se consideran marcadores quimiotaxonómicos de este género (Barros et al., 2018; Govindarajan y Chinnachamy, 2014; Kalebar et al., 2019; Mashwani et al., 2016; Pereira et al., 2019; Ramos y De Oliveira, 2016; Soto Vásquez, 2014).

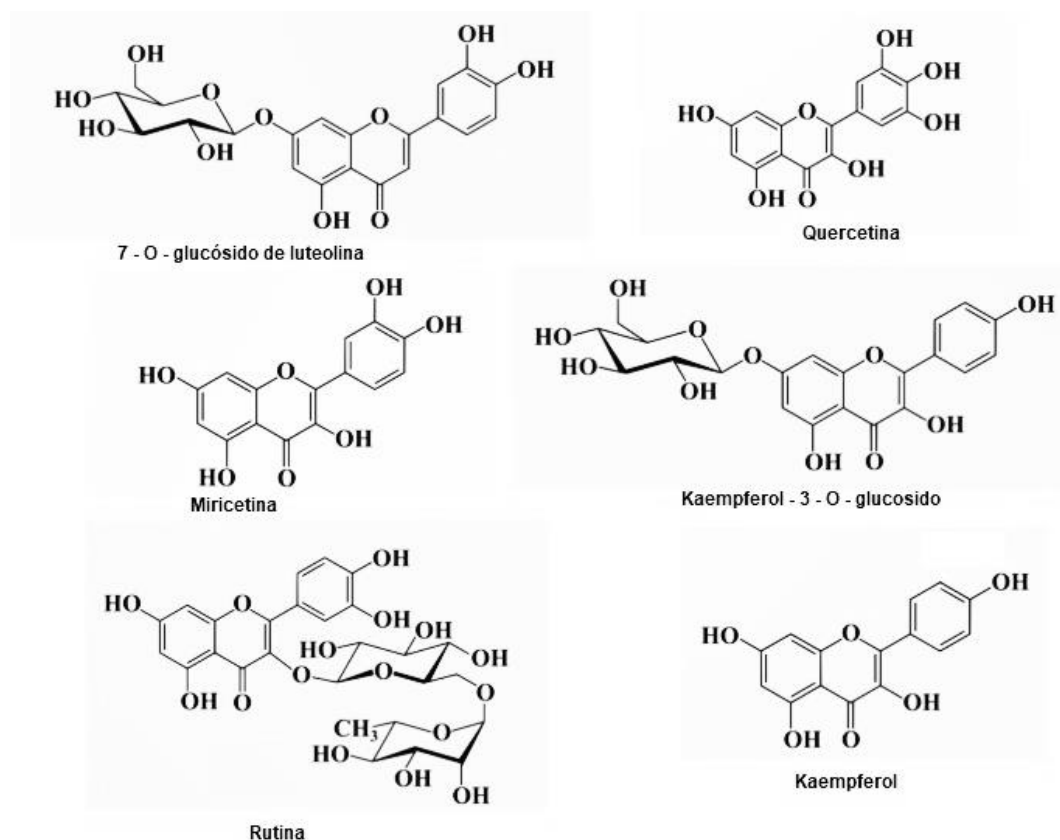
Los glicoalcaloides esteroidales (SGA) (Figura 5) presentes en el género *Solanum* se caracterizan por tener aglicona esteroidal nitrogenada y residuos de glucósidos. Hasta la fecha, se han identificado 107 SGA. Los SGA tienen estructuras únicas y muestran actividades farmacológicas significativas, como citotóxicos, antimicrobianos y algunos son venenos, siendo los SGA más conocidos en el género *Solanum* el solanidano y espirosolano (Al Sinani y Eltayeb, 2017; Friedman et al., 2018; Zhao et al., 2021).

Figura 5

Estructuras químicas de glicoalcaloides esteroidales (SGA) presentes en diferentes especies del género Solanum



Nota: Tomado de Zhao et al., 2021.

Figura 6*Estructuras de diferentes flavonoides aglicónicos*

Nota: Tomado de M. Kumar et al., 2021

Además de los alcaloides, los flavonoides forman un grupo importante de compuestos que se han descrito para el género *Solanum*, entre las más destacables se encuentran las agliconas de flavona y flavonol reportadas para el género *Solanum*. Los flavonoides aglicónicos se derivan de esqueletos de flavonas (apigenina y luteolina) y flavonoles (kaempferol, quercetina, miricetina y herbacetina) (Silva et al., 2022), siendo las más comunes en el género *Solanum* la quercetina, apigenina, kaempferol e isorhamnetina (Piao et al., 2014).

2.1.3. *Compuestos fenólicos*

Los compuestos fenólicos son un tipo de metabolitos secundarios que se encuentran en una gran diversidad de plantas (Ambriz-Pérez et al., 2016; Martin G., 2018) con más de 8000 estructuras conocidas, desde los fenólicos simples como los ácidos fenólicos a más complejos como los taninos (Shah et al., 2018). Presentan tal importancia que poseen su propia base de datos llamada Phenol-Explorer, donde se describen 500 polifenoles diferentes en más de 400 productos, principalmente en frutas (Lima et al., 2019)

2.1.3.1. Estructura. Los compuestos fenólicos tienen uno o más anillos aromáticos en su estructura, al que se pueden acoplar uno o más grupos hidroxilo (Ambriz-Pérez et al., 2016; Shah et al., 2018). Pueden existir como glucósidos o agliconas; compuestos de matriz o de unión libre; y que comprenden principalmente estructuras polimerizadas o monoméricas (Alara et al., 2021). Los compuestos fenólicos de las plantas pueden ser simples en cuanto a su estructura química, como las benzoquinonas (C6) y los ácidos hidroxibenzoicos (C6-C1), o pueden ser químicamente complejos y producirse en forma polimérica, como la lignina (C6-C3)_n y los taninos condensados (C6-C3-C6)_n (Al Jitan et al., 2018).

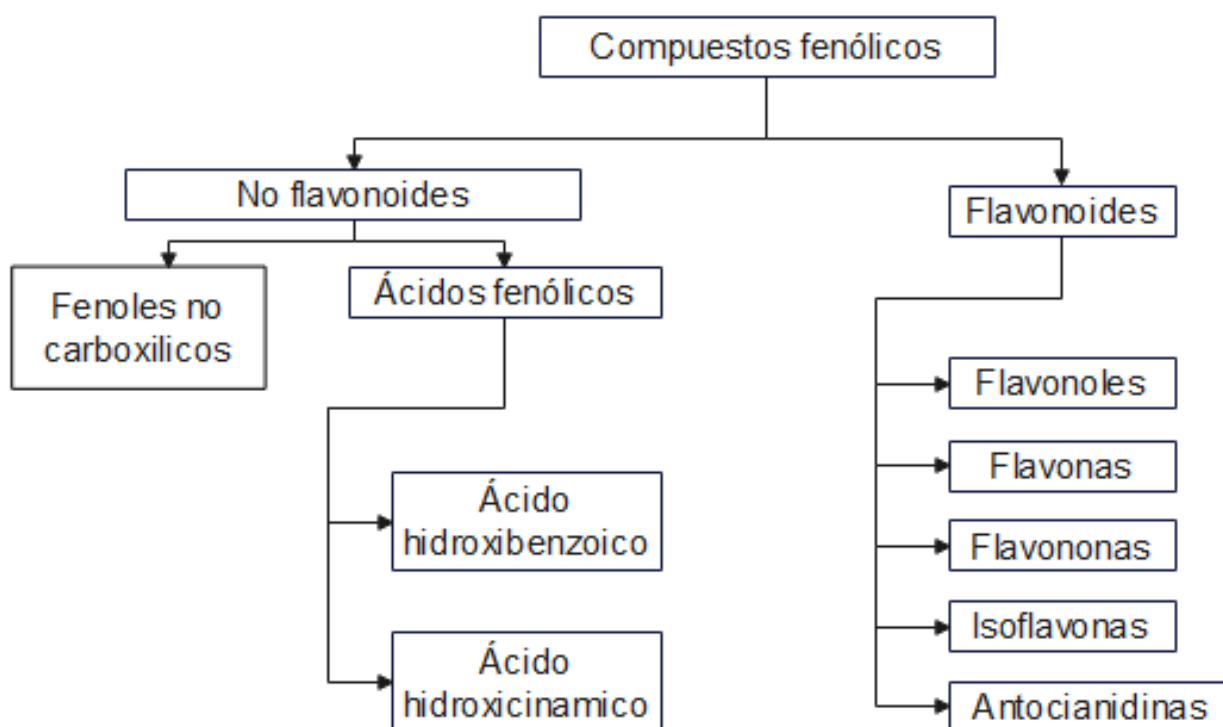
Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en flavonoides y no flavonoides como se observa en la Figura 7:

- Los flavonoides: Están compuestos por dos anillos aromáticos unidos a través de un heterociclo con oxígeno. Según el grado de hidrogenación y la sustitución del heterociclo se pueden subclasificar en flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianinas, flavanoles, flavanonas, etc. Los flavonoides suelen presentarse en la naturaleza como glucósidos. (Ambriz-Pérez et al., 2016; Tungmunnithum et al., 2018)

- No flavonoides: Estos pueden ser fenoles no carboxílicos, cumarinas y ácidos fenólicos (Creus, 2004; Vuolo et al., 2018), siendo los más conocidos, de este último, el ácido benzoico y cinámico (Alara et al., 2021)

Figura 7

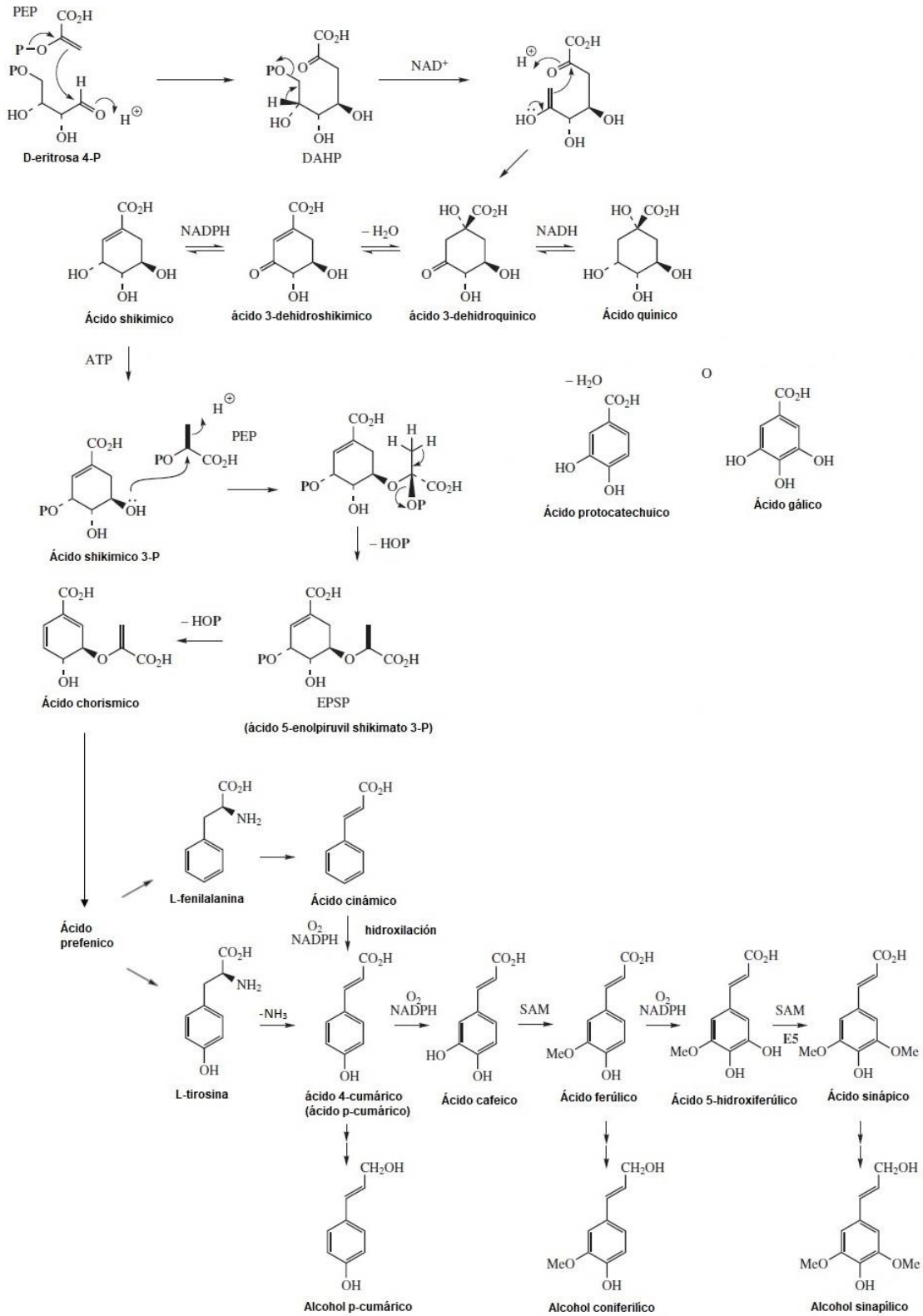
Esquema de la clasificación general de los compuestos fenólicos.



2.1.3.2. Biosíntesis. Los compuestos fenólicos se biosintetizan en las plantas por medio de rutas como la del ácido shikímico y la del acetato-malonato (Martín-Gordo, 2018), como se puede apreciar en la Figura 8.

Figura 8

Ruta biogénica de algunos compuestos fenólicos



Nota: Tomado de Lock, 2016.

2.1.3.3. Propiedades. Los compuestos fenólicos se encuentran principalmente en vegetales dándoles las características organolépticas a los alimentos, en especial, frutas y verduras (Alara et al., 2021). Así mismo participan en la defensa de las plantas contra los rayos ultravioleta (UV), patógenos y otros depredadores (Shah et al., 2018).

Se consideran un componente vital de la dieta humana y exhiben una enorme actividad antioxidante, así como otros beneficios para la salud reduciendo significativamente el riesgo de muchas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Kumar y Goel, 2019). Las bioactividades están relacionadas con sus características químicas, particularmente la presencia de una estructura aromática y múltiples grupos hidroxilo capaces de donar electrones o átomos de hidrógeno, neutralizando los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno (Lima et al., 2019), demostrando propiedades antiinflamatorias (Ambriz-Pérez et al., 2016), antimicrobianas, antibacterianas, como agentes cardioprotectores, promotores del sistema inmunológico, protección de la piel contra la radiación UV (Tungmunnithum et al., 2018) y antiproliferativas, entre otras, lo que ha generado un gran interés en su uso por parte de diversas industrias (Albuquerque et al., 2021) como en la industria textil, alimentaria (Al Jitan et al., 2018) y aplicaciones farmacéuticas y médicas (Tungmunnithum et al., 2018).

2.1.4. Ácidos fenólicos

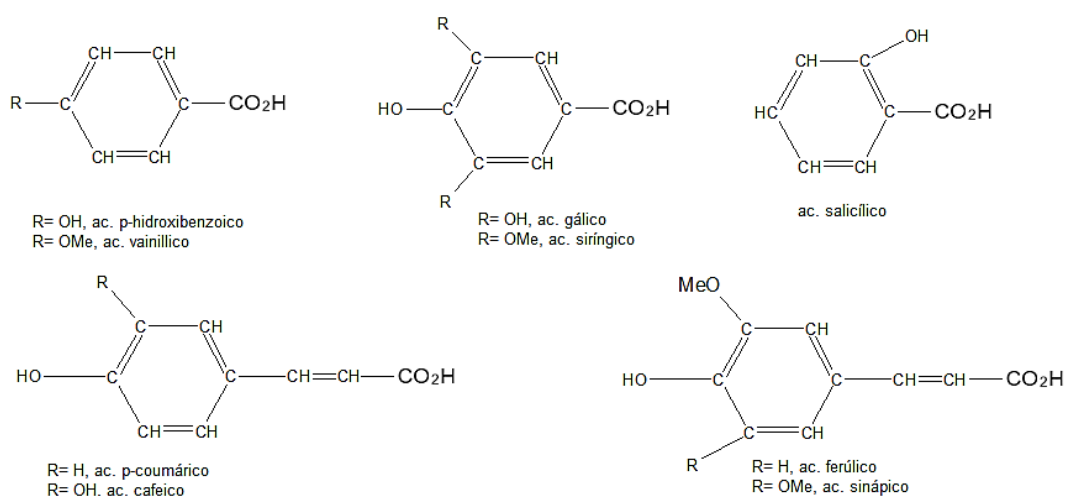
Los ácidos fenólicos tienen muchas funciones en las plantas: son componentes estructurales de la pared celular, mejoran la absorción de nutrientes, favorecen la germinación de semillas bajo estrés abiótico, actúan como moléculas señalizadoras en las respuestas de defensa local y sistémica de las plantas, y median la selección de poblaciones microbianas beneficiosas para las plantas en suelo de rizosfera (Al Jitan et al., 2018).

2.1.4.1. Estructura. Los ácidos fenólicos están ampliamente distribuidos en las plantas y se presentan en forma insoluble como componentes estructurales de la pared celular asociados con xilanos, pectina y lignina, en forma conjugada con azúcares, como dépsidos o como glucósidos simples (Al Jitan et al., 2018)

Hay 2 clases de ácidos fenólicos, los derivados del ácido benzoico (ácido gálico) y los del ácido cinámico como el ácido cumárico y ferúlico (Figura 9). El ácido cafeico se encuentra principalmente en vegetales y frutas, en su mayoría están esterificados con ácido quínico. El ácido ferúlico es otro ácido fenólico común que se encuentra en los cereales; mayormente esterificado con hemicelulosas (Alara et al., 2021).

Figura 9

Estructura de ácidos fenólicos



Nota: Adaptado de Lock, 2016.

La biosíntesis de ácidos fenólicos en las plantas se produce principalmente a través de la vía del shikimato/fenilpropanoide a partir de dos aminoácidos aromáticos: L-fenilalanina y/o L-tirosina. Tres procesos están involucrados en la biosíntesis de ácidos fenólicos: desaminación, hidroxilación y metilación (Al Jitan et al., 2018).

2.1.4.2. Propiedades. Los ácidos fenólicos son el grupo más destacado de compuestos bioactivos presentes en diversas fuentes vegetales, éstos imparten características organolépticas típicas a los alimentos y están relacionados con varios beneficios para la salud (Rashmi y Negi, 2020).

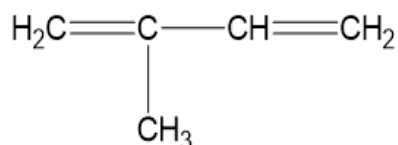
Los ácidos fenólicos, poseen un resto de fenol y una estructura estabilizada por resonancia que hace que la donación de átomos de H resulte en una propiedad antioxidante a través de un mecanismo de eliminación de radicales, se encuentran en todas partes y también son antimicrobianos, anticancerígenos, antiinflamatorios, antimutagénicos, etc (Kumar y Goel, 2019), y tienen mucha relevancia en la parte alimenticia (Adebo & Medina-Meza, 2020; Cianciosi et al., 2018; Ciulu et al., 2018)

2.1.5. *Terpenoides*

El término “terpenoide” se refiere a un grupo de sustancias que tienen un origen biosintético común y que siguen la llamada “regla del isopreno” (Lock, 2016). Los terpenos, o terpenoides son uno de los mayores grupos de productos naturales y comprenden numerosas sustancias con funciones importantes en los procesos fisiológicos y patológicos (Filho Mendes da Silva et al., 2017). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas (Ávalos y Elena, 2009).

Figura 10

Estructura del isopreno

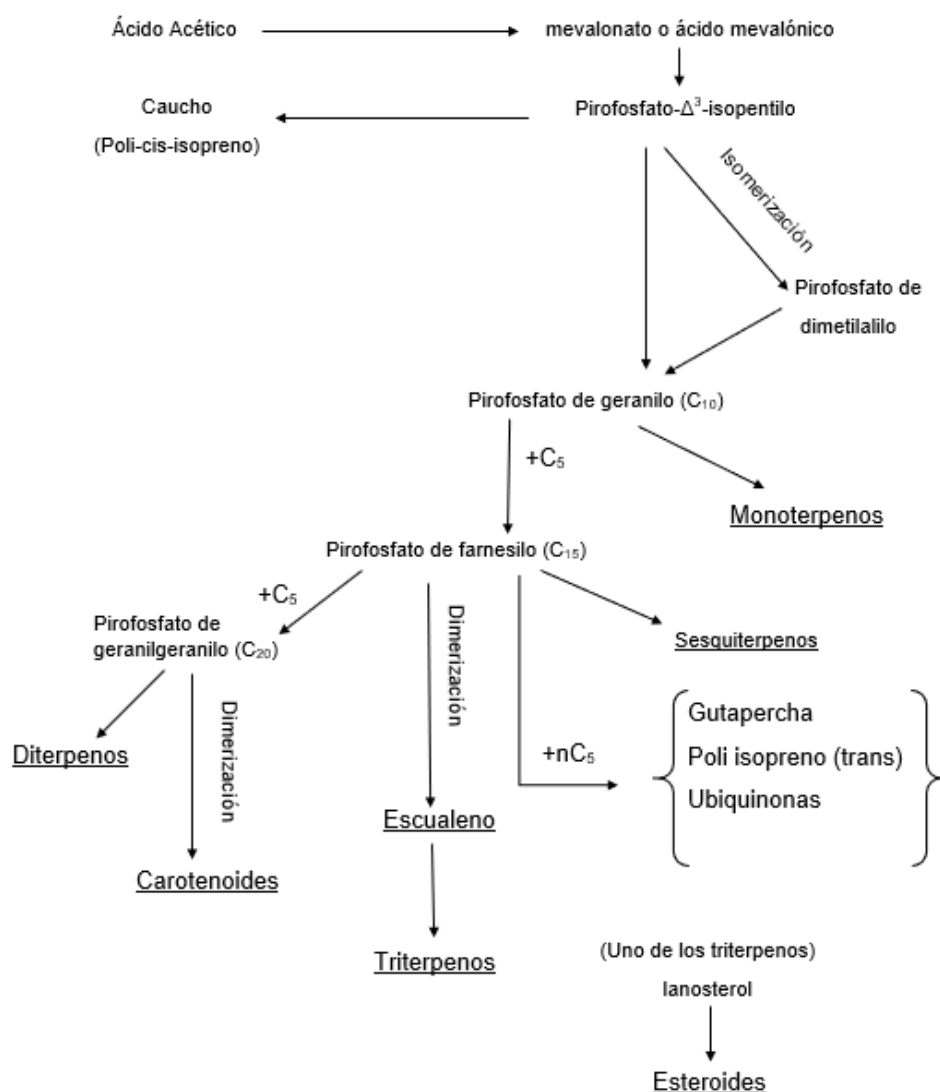


Nota: Adaptado de Lock, 2016.

Miles de compuestos que pertenecen a la familia de los terpenoides con propiedades antimicrobianas se han asociado a su composición química, estructura y grupos funcionales los cuales derivan de un precursor de cinco átomos de carbono, el difosfato de isopentenilo y con base al número de unidades de isopentenilo se clasifican como mono-, sesqui-, diterpenoides, entre otros, además la presencia y/o ausencia de algunos grupos funcionales específicos que diversifican aún más los compuestos que pertenecen a la misma subclase biosintética (Gallegos-Flores et al., 2019).

Figura 11

Biosíntesis de terpenoides



Nota: Tomado de Lock, 2016.

Los esqueletos de la mayoría de las moléculas de señalización en plantas, mediadores de la "transmisión" intercelular de plantas responsables de coordinar su crecimiento, desarrollo y respuestas a las señales ambientales, se construyen a partir de unidades C5 de isopreno y, por lo tanto, son isoprenoides (terpenoides). Cumplen muchos roles importantes en la naturaleza (Tarkowská y Strnad, 2018).

Los isoprenoides esenciales más ampliamente estudiados son una familia de triterpenoides tetracíclicos conocidos como esteroides, que se encuentran tanto en el reino animal como en el vegetal, es decir, en la mayoría de los eucariotas. El esteroide más conocido es el colesterol (C27), que puede ser producido por células vegetales y animales (Tarkowská y Strnad, 2018).

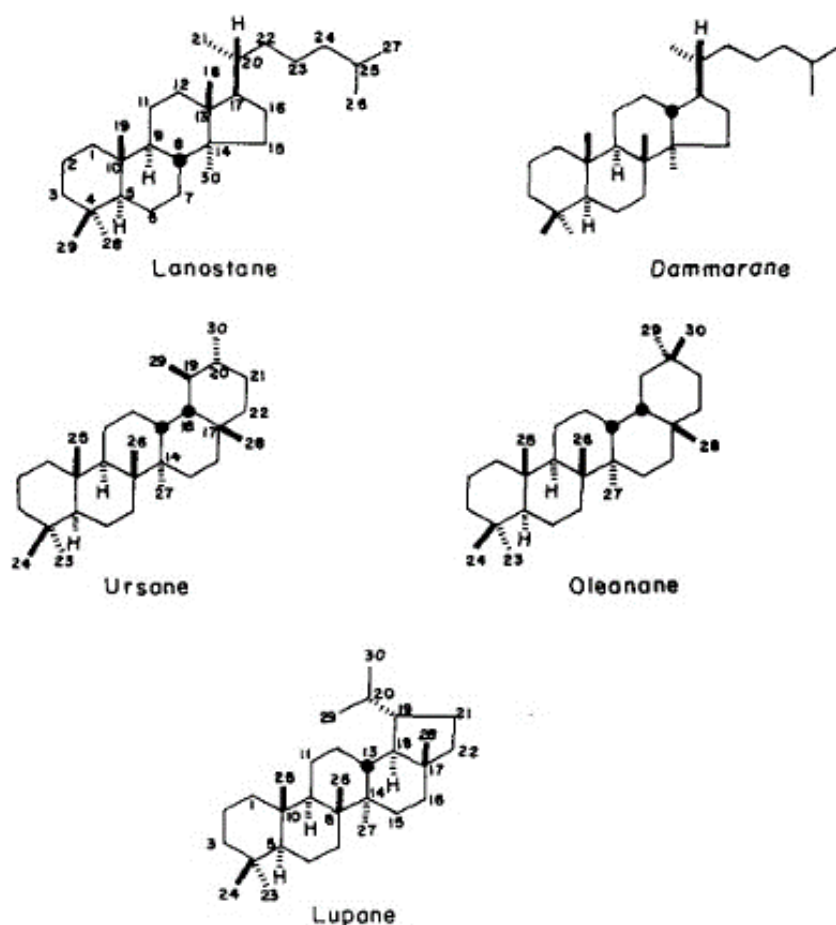
2.1.5.1. Propiedades. La actividad antimicrobiana de los terpenoides puede explicarse por al menos cinco mecanismos de acción; estos incluyen, daño en la estructura y función de la membrana, inhibición de la biosíntesis y función de los ácidos nucleicos, interferencia de procesos metabólicos esenciales, inducción de la coagulación de los componentes citoplasmáticos y la interrupción en la comunicación celular normal; estos mecanismos de acción pueden verse influenciados por varios factores, como las características de las células bacterianas (bacterias Gram positivas y negativas), condiciones ambientales y fisicoquímicas (la hidrofobicidad, la concentración del compuesto, la temperatura y el pH) (Gallegos-Flores et al., 2019).

En recientes investigaciones se ha demostrado el uso de terpenoides o terpenos, utilizándolos en la industria química como una solución ecológica en repelentes de insectos, insecticidas, desinfectantes, fungicidas y bactericidas (Filho Mendes da Silva et al., 2017).

2.1.5.2. Triterpenoides. Los triterpenos son los terpenos de 30 carbonos. Usualmente generados por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola. Los triterpenoides son metabolitos abundantes en la naturaleza y se ha demostrado que poseen una amplia gama de actividades biológicas (Suri et al., 2015).

Figura 12

Núcleos triterpénicos más comunes



Nota: Tomado de Dev & Nagasampagi, 2018.

Entre los Triterpenos se encuentran esteroides y esteroles derivados del escualeno, una molécula de cadena lineal de 30 C de la que derivan todos los triterpenos cíclicos. Los esteroides que contienen un grupo alcohol, y es el caso de casi todos los esteroides vegetales,

se denominan esteroides. Los más abundantes en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, que sólo difiere del estigmasterol en la ausencia del doble enlace entre C 22 y C 23 (Lock, 2016).

Los principales núcleos triterpénicos son: escualeno, lanostano, lupano, oleanano, ursano dammarano, entre otros (Hill y Connolly, 2017).

2.1.5.3. Propiedades. Las actividades anticancerígenas de los triterpenoides y sus saponinas se han revisado ampliamente. Otras actividades como el propiedades antidiabéticas y efectos neuro farmacológicos de triterpenoides también han sido descubiertos (Hill y Connolly, 2017) en especial las enfermedades relacionadas a inflamaciones crónicas (Yadav et al., 2010). Las saponinas se sintetizan en prácticamente todas las plantas con flores (Rahimi et al., 2019) Los triterpenos, particularmente los triterpenos pentacíclicos poseen una gran variedad de actividades biológicas interesantes, tales como antitumoral, antidiabética, antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral, antiparasitaria, hepatoprotectora, cicatrizante, antioxidante, antiprurítico, antiangiogénica (Alarcón y Cespedes, 2015; Quiroz et al., 2015), pero en estudios recientes se ha demostrado su potencial actividad insecticida (Rattan et al., 2015).

Las saponinas son metabolitos secundarios que constituyen una gran familia de compuestos estructuralmente conformados por un anillo terpenoide o esteroidal, conocidos como aglicona o sapogenina, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfífilico. Las saponinas son consideradas como un factor anti nutricional que se encuentra en semillas, cáscara y son las responsables del sabor amargo (Bonilla et al., 2019), sin embargo, poseen un elevado valor farmacológico, por lo que determinar la concentración de este metabolito y la presencia de otros en las diferentes partes de la planta, permitirá desarrollar futuras evaluaciones biológicas (Mena et al., 2015). Las saponinas triterpenoides poseen amplias actividades biológicas como antiinflamatorias,

antitumorales, analgésicas, cardioprotectoras y agentes citotóxicos (Rattan et al., 2015), en los últimos años se ha destacado su efecto piscicidas, insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, antitrichomonas, antiagregante plaquetario, broncolítico, hipo-colesterolémico, así como su actividad citotóxica frente a varias neoplasias (Bonilla et al., 2019; Mena et al., 2015).

Las saponinas poseen actividades insecticidas claras: ejercen una acción fuerte y rápida contra una amplia gama de insectos plaga diferente de la neurotoxicidad. Los efectos más observados son aumento de la mortalidad, disminución de la ingesta de alimentos, reducción de peso, retraso en el desarrollo y disminución de la reproducción. Según las principales hipótesis en la literatura, las saponinas ejercen una actividad repelente / disuasoria, soportan problemas digestivos, provocan defectos de muda de insectos o causan efectos de toxicidad celular (De Geyter et al., 2007).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación es básica, el diseño es experimental

3.2. Ámbito temporal y espacial

La colecta de la especie vegetal *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav se llevó a cabo en la estación de investigación IVITA-PUCALLPA perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en la provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, desde la primera semana de septiembre hasta la quincena de octubre del 2020.

El desarrollo de la parte experimental se realizó en el laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima- Perú y en el laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Chile, Santiago de Chile – Chile.

3.3. Variables

Variable independiente: Fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

Variable dependiente: Metabolitos secundarios mayoritarios en el fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

3.4. Población y muestra

La población estudiada estuvo conformada por frutos de la especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav provenientes de 30 árboles dentro de una hectárea. La muestra vegetal fue de 15 kg de fruto verde.

3.5. Instrumentos

Tabla 3

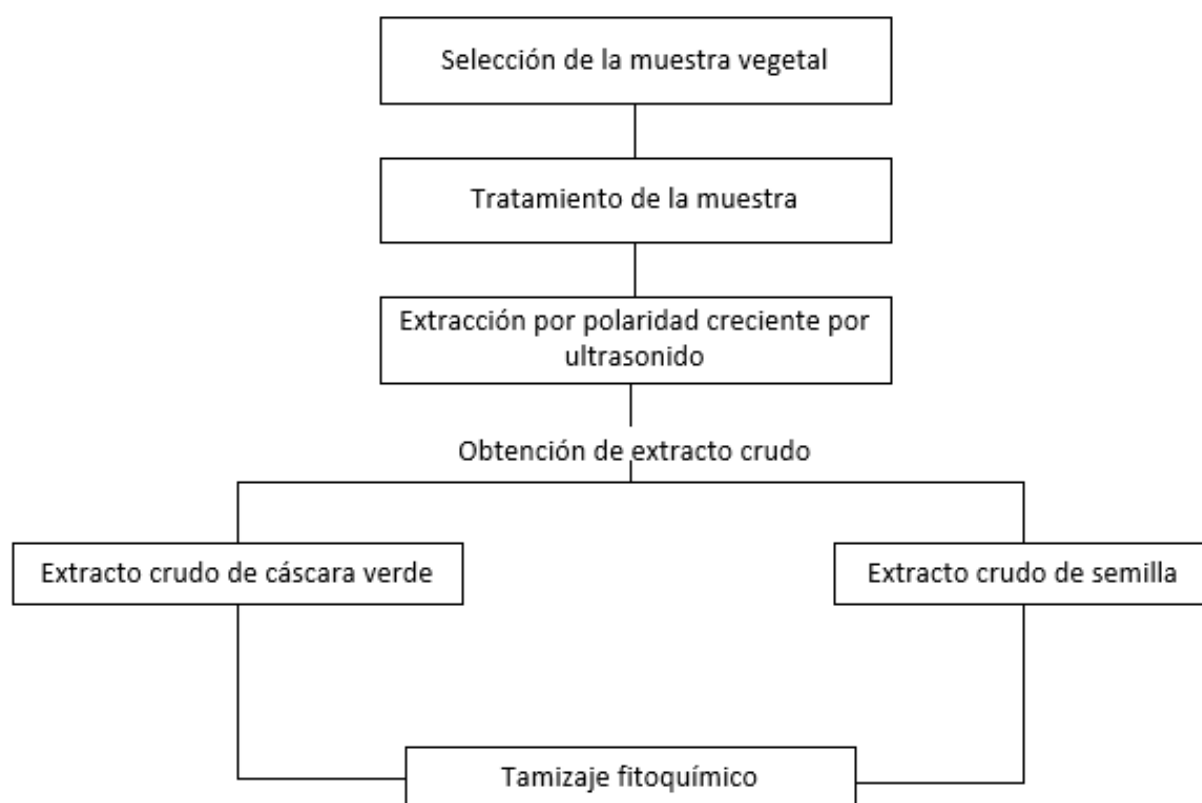
Materiales, equipos y reactivos utilizados en el proyecto de investigación.

Materiales		Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> • Vasos de precipitado de 250 mL • Placas Petri • Viales ámbar con tapa • Viales transparentes con tapa • Vasos de precipitado de 100 mL • Recipientes de 500 mL ámbar con tapa rosca boca ancha. • Pipetas grandes de 100 mL de capacidad • Tubos de ensayo lunas de reloj • Espátulas • Pipeta volumétrica de 0.5 mL de capacidad • Pipeta volumétrica de 1 mL de capacidad • Cromatofolios de silicagel para análisis cualitativos. • Cámara cromatográfica para placa analítica con su respectiva tapa • Embudos de vidrio de 100 mL de capacidad. • Papel filtro Whatman número 40 	<ul style="list-style-type: none"> • Papel indicador PANPEHA • Papel aluminio • Pipetas descartables de 5 mL • Cámara cromatográfica de 20 x 20 cm para placa preparativa con su respectiva tapa • Columna cromatográfica de 5 cm de diámetro y 1.3 m de largo. • Columna cromatográfica de 3 cm de diámetro y 60 cm de largo. • Columna cromatográfica de 2.5 diámetro y 50 cm de largo. • Columna cromatográfica de 3.5 cm de diámetro y 1.2 m de largo. • Columna cromatográfica de 5 cm de diámetro y 12 cm de largo. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agua ultra-pura ▪ Etanol Q.P ▪ Metanol Q.P. ▪ Éter de petróleo G.A. ▪ Diclorometano ▪ Cloruro férrico 1% ▪ Ácido clorhídrico concentrado ▪ Tolueno ▪ Ácido sulfúrico concentrado ▪ Cinta de magnesio ▪ Acetato de etilo Q.P. ▪ Ácido fórmico Q.P. ▪ Ácido acético glacial Q.P. ▪ Sephadex LH – 20 ▪ Gel de sílice fina 60. ▪ Éter de petróleo P.A. ▪ Diclorometano P.A. ▪ Metanol P.A. ▪ Acetato de etilo P.A. ▪ Cloroformo deuterado. ▪ Metanol deuterado.
Equipos		
<ul style="list-style-type: none"> • Estufa de esterilización (EUROLAB modelo WHL 30B) • Ultracentrífuga (Hettich-Universal 320/320R) • Ultrasonido (BIOBASE modelo UC-20S) • Balanza analítica (BOECO – BAS 31 Plus) • Evaporador rotativo (Heidolph – Hei-VAP Value) • Bomba de vacío (Vacuubrand – PC 3001 Vario PRO) • UHPLC-MS-MS (Triple Quad 4500 - AB Sciex Instruments) • Espectrómetro de resonancia magnética nuclear (BRUKER AVANCE III HD-400-RMN ¹H) 		

3.6. Procedimientos

Figura 13

Metodología utilizada para la investigación.



3.6.1. Obtención de la droga vegetal a partir de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

A. Recolección, selección y clasificación taxonómica de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. Se colectaron 15 kg de frutos verdes de *S. grandiflorum* Ruiz & Pav. provenientes del Instituto Veterinario de Investigaciones de Trópico y de Altura (IVITA) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ucayali, Perú, durante los meses de Septiembre – Octubre, se seleccionaron los frutos sin daños físicos causados por insectos o agentes microbianos (Mak et al., 2013) (Figura 14,15).

Figura 14

Hojas, flor y fruto de Solanum grandiflorum Ruíz & Pav.

**Figura 15**

Frutos verdes de Solanum grandiflorum Ruíz & Pav.



B. Tratamiento de la muestra vegetal. Se realizó un primer lavado con agua destilada para eliminar la tierra en la muestra vegetal, luego se desinfectó el fruto por inmersión con hipoclorito de sodio 10 ppm por 10 minutos, y se dejó reposar en papel Kraft para que absorba el exceso de agua antes de llevar a secado en un rango de 35°C a 38°C (Figura 16) (Mak et al., 2013).

Figura 16

Limpieza y desinfección de frutos verdes de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav

**Figura 17**

Separación de semillas de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav



Se separó el fruto en tres partes: cáscara, semilla y pulpa. Se retiró la cáscara con ayuda de una espátula, sin embargo, para separar la pulpa y las semillas del fruto se utilizó un tamiz

de acero inoxidable para optimizar el proceso como se observa en la Figura 17. La cáscara y semillas obtenidas se enjuagaron con agua ultrapura en grandes cantidades y la separación se realizó de forma manual.

C. Secado de la muestra vegetal. Las cáscaras se secaron sobre papel Kraft, las semillas y la pulpa sobre placas Petri de vidrio como se observa en la Figura 18. El secado de las muestras se realizó en estufa entre 36-39 °C (Okokon et al., 2017).

Figura 18

Cáscaras de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.



Luego se realizó la molienda del material vegetal en un moledor eléctrico como se muestra en las Figuras 19-21.

Figura 19

Molienda de cáscaras secas de la especie Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.

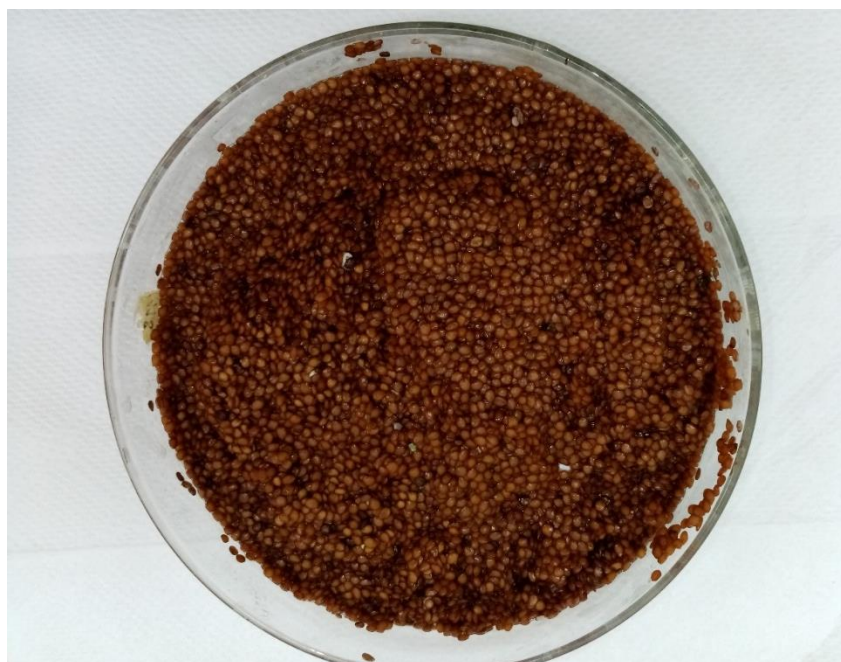
**Figura 20**

Cáscaras totalmente molidas de frutos verdes de Solannum grandiflorum Ruiz & Pav.



Figura 21

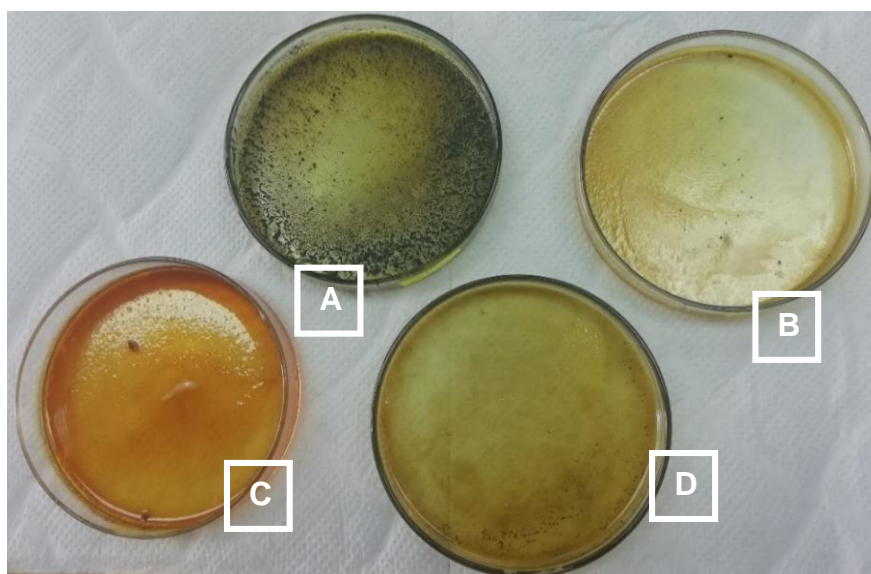
Semillas de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav



D. Extracción preliminar de hojas, cáscaras, semillas y pulpa de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. y Marcha fitoquímica. Se realizó la extracción con etanol al 80% a temperatura ambiente (Shen y Shao, 2005), en un frasco ámbar de 100 mL de capacidad.

Figura 22

Extractos de hojas (A), pulpa (B), semillas (C) y cáscaras verdes (D) obtenidos a partir de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.



Se dejó en maceración por 3 días y luego se filtró con papel filtro Whatman rápido, el filtrado se concentró hasta sequedad en un rango de temperatura entre 36-38 °C (Figura 22).

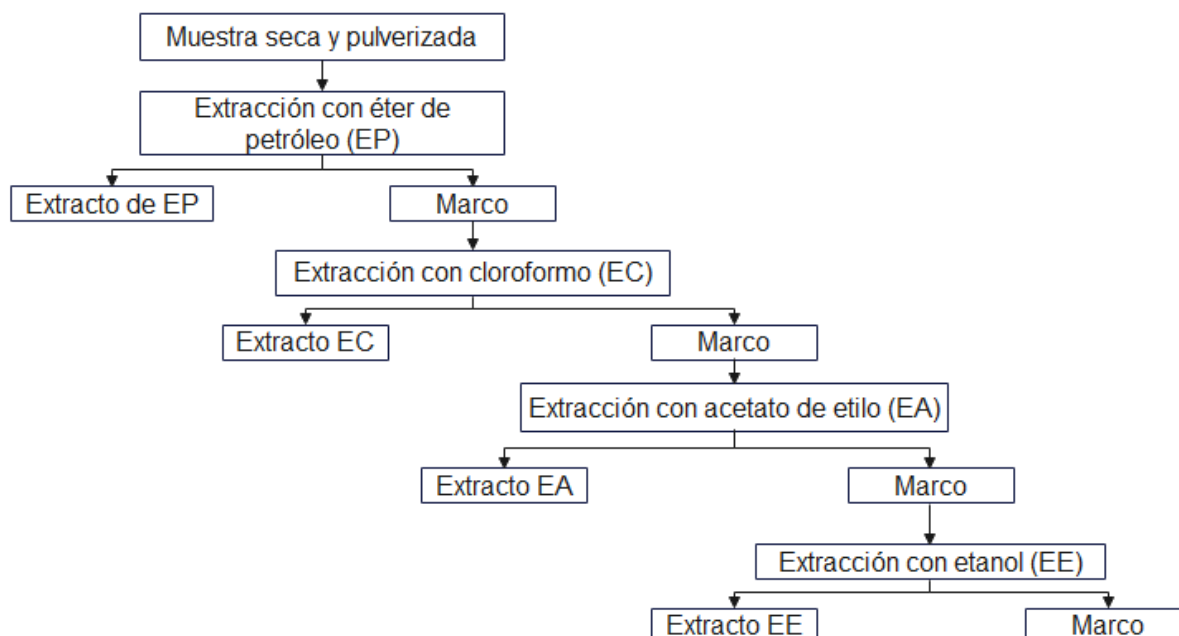
Con los extractos obtenidos se realizó una marcha fitoquímica para revelar la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, antraquinonas, azúcares reductores, glucósidos cardíacos y terpenoides (Okokon et al., 2016, 2017).

3.6.2. Extracción de la droga vegetal proveniente de *Solanum grandiflorum*

A. Extracción de cáscaras y semillas de *Solanum grandiflorum*. El proceso de extracción en cáscaras y semillas del fruto de *Solanum grandiflorum* se realizó por maceración asistida con ultrasonido, empleando disolventes de polaridad creciente: éter de petróleo (EP), cloroformo (EC), acetato de etilo (EA) y etanol (EE) (Figura 23). Se colocaron 120 g de muestra seca de semillas en un frasco color ámbar con 100 mL de disolvente.

Figura 23

Extracción por ultrasonido con solventes de polaridad creciente



Se realizó la extracción durante 30 minutos con tres intervalos de 10 minutos cada uno, manteniendo el rango de temperatura entre 20°C a 32°C, luego se filtró con papel filtro

Whatman rápido. El extracto obtenido se recibió en placas Petri como se muestra en la Figura 24 y se concentró a temperatura entre 36°C-38 °C (Okokon et al., 2017). El mismo procedimiento se realizó para la extracción de las cáscaras del fruto, como se muestra en la Figura 25.

Figura 24

Filtración de EA de cáscara verde (A) y semillas (B) del fruto de Solanum grandiflorum

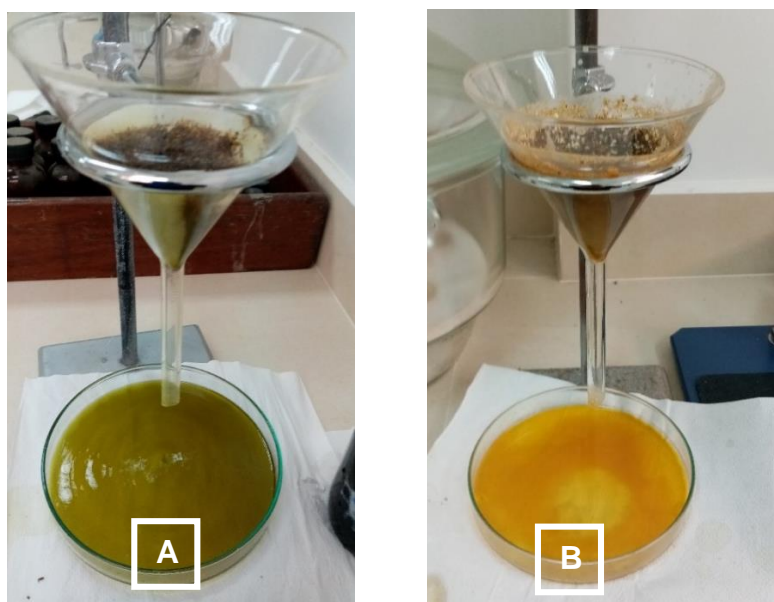
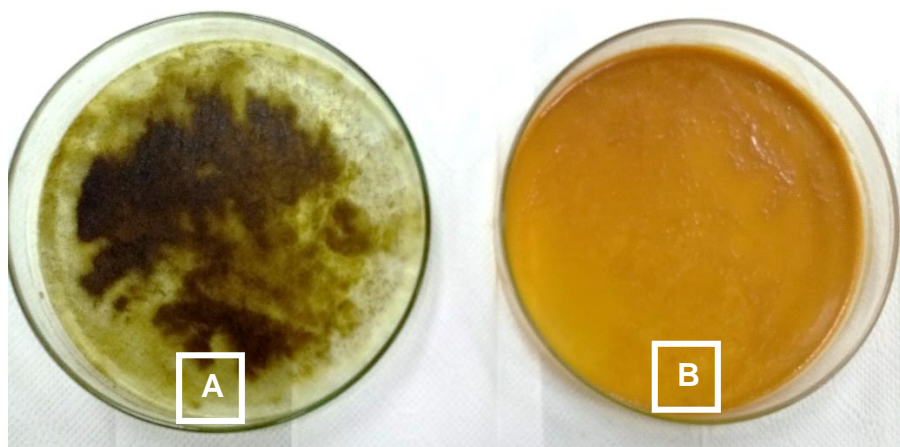


Figura 25

Extracto seco de EA de cáscara (A) y extracto seco de EA de semilla (B) de Solanum grandiflorum



Se repitió el tamizaje fitoquímico con los extractos obtenidos, para evidenciar la presencia de terpenoides, poniendo énfasis en triterpenoides (Okokon et al., 2016, 2017), para ello se realizó la prueba de Liebermann-Burchard (Lock, 2016). Los extractos crudos de semillas y cáscara verde fueron tratados según las metodologías I y II.

3.6.3. Metodología I

3.6.3.1. Cromatografía en capa fina (TLC) preliminar. Para continuar la separación se realizaron pruebas en TLC con los extractos de éter de petróleo (EP), cloroformo (EC), acetato de etilo (EA) y etanol (EE) de semillas y cáscaras empleando cromatofolios de silicagel 60 F254 (Merck) y diferentes fases móviles, según la Tabla 4.

Tabla 4

Fases móviles utilizadas en TLC para seleccionar extractos de semilla y cáscara.

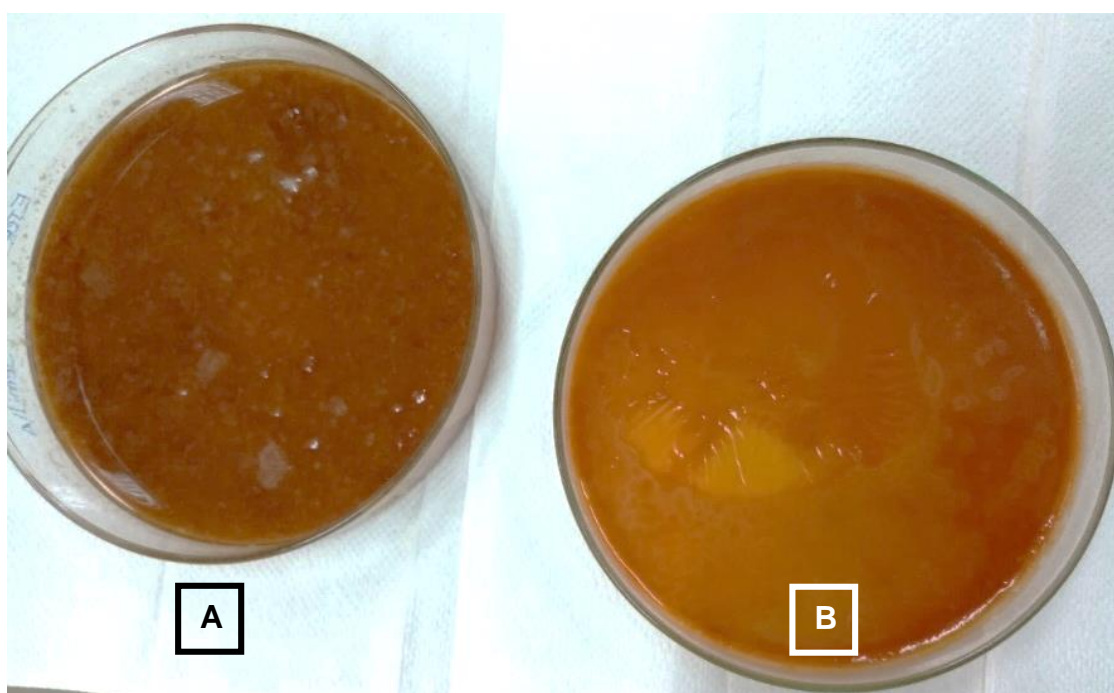
Fase móvil	Proporción (mL)
Éter de petróleo – Diclorometano	3:1
Éter de petróleo – Diclorometano	1:1
Éter de petróleo – Diclorometano	3:1
Éter de petróleo – Cloroformo	3:1
Éter de petróleo – Cloroformo	1:1
Éter de petróleo – Cloroformo	1:3
Éter de petróleo – Acetato de etilo	9:1
Éter de petróleo – Acetato de etilo	9.5:0.5
Éter de petróleo – Acetato de etilo	8.5:1.5
Éter de petróleo – Acetato de etilo	4:1
Cloroformo – Metanol	6:1

3.6.3.2. Fraccionamiento de extracto EC de semillas

A. Preparación de la muestra. El EC obtenido a partir de las semillas presentó una sustancia aceitosa, por lo que antes se tuvo que decantar para separarlo del aceite. Una parte del EC seco (Figura 26) de las semillas de *Solanum grandiflorum* se mezcló con silicagel para columna hasta obtener una consistencia pastosa.

Figura 26

EC (A) y EA (B), secos de semillas del fruto de Solanum grandiflorum



B. Empaque de la columna. Se empaquetó la columna cromatográfica de 3 cm de diámetro y 60 cm de largo con silicagel G60 como fase estacionaria (Chianese et al., 2019), se compactó retirando los espacios de aire y se sembró la muestra preparada del extracto EC, según la Figura 27.

Figura 27

Columna cromatográfica con silicagel y EC de las semillas de Solanum grandiflorum



C. Desarrollo cromatográfico. Se utilizaron como eluyentes mezclas de éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo en polaridad creciente, según la Tabla 5 (Hasballah et al., 2021). Se recibieron 90 eluatos, los cuales fueron analizados posteriormente por TLC.

Tabla 5

Fase móvil utilizada en la CC del extracto EC de semillas

Fase móvil	Proporción	Volumen
Éter de petróleo - Cloroformo	9:1	150 mL
Éter de petróleo - Cloroformo	4:1	150 mL
Éter de petróleo - Cloroformo	8:2	150 mL
Éter de petróleo - Cloroformo	7:3	150 mL
Éter de petróleo - Cloroformo	1:1	150 mL
Éter de petróleo – Acetato de etilo	1:1	200 mL

D. Análisis de los eluatos por TLC. Los eluatos obtenidos fueron monitoreados por TLC, se sembró el primer eluato y luego los siguientes (cada cinco eluatos). Se utilizaron cromatofolios con silicagel 60 F₂₅₄ y como fase móvil mezclas de éter de petróleo y cloroformo según la Tabla 6, los cromatofolios se aspersaron con vainillina- ácido fosfórico, se calentaron a 105 a 110°C en plancha de calefacción hasta la aparición de un color morado y se observaron en la lámpara UV-Visible a una longitud de onda de 365 nm.

Tabla 6

Fase móvil utilizada en las TLC de los eluatos obtenidos de la CC del EC

Eluatos	Fase móvil	Proporción
1-15	Éter de petróleo - Cloroformo	4:1
16-30	Éter de petróleo - Cloroformo	7:3
31-45	Éter de petróleo - Cloroformo	7:3
46-60	Éter de petróleo - Cloroformo	7:3
61-75	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1
76-90	Éter de petróleo - Cloroformo	8:2

Los eluatos se agruparon según los valores de R_f obtenidos en las TLC, en 4 sub-fracciones (Bs 3, Bs4 y 5, Bs6 y Bs7) como se observan en la Tabla 7, cada sub-fracción se colocó en una placa Petri hasta la evaporación a sequedad del solvente.

Tabla 7

Sub-fracciones a partir del extracto clorofórmico EC

Tubos con eluatos	Sub-fracción
17-25	Bs 3
26-55	Bs 4 y 5
56-65	Bs 6
66-90	Bs 7

Finalmente, se redisolvió cada sub-fracción obtenida con cloroformo (P.A), se trasvasó a viales de color ámbar, se llevó a campana hasta evaporar todo el cloroformo y se pesó en balanza analítica. Las sub-fracciones se sellaron con Parafilm y se llevaron a refrigeración hasta su posterior análisis.

3.6.3.3. Fraccionamiento de extracto EA de semillas

A. Preparación de la muestra. En el extracto EA no se observó una sustancia aceitosa, la muestra se preparó con el mismo procedimiento descrito a partir del extracto EC.

B. Empaque de la columna cromatográfica. Se empaquetó la columna cromatográfica 3 cm de diámetro y 60 cm de largo con gel de sílice G60 como fase estacionaria (Chianese et al., 2019), se compactó retirando los espacios de aire y se sembró la muestra preparada del extracto EA de semillas.

C. Desarrollo cromatográfico. El desarrollo cromatográfico se realizó con mezclas de éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo en polaridad creciente, según lo descrito en la Tabla 8, obteniendo 50 eluatos que fueron analizados por TLC, usando éter de petróleo – acetato de etilo [1:1], como fase móvil, y vainillina – ácido fosfórico, como revelador. Se reunieron los eluatos según su Rf: 1-15 (Cs1) 12.6 mg y de 16-50 (Cs2) 4g, luego se realizó una columna cromatográfica a partir de Cs2.

Tabla 8

Fase móvil utilizada en la CC del EA de semillas

Fase móvil	Proporción	Volumen (mL)
Éter de petróleo - Cloroformo	7:3	150
Éter de petróleo - Cloroformo	6:4	150
Éter de petróleo - Cloroformo	1:1	150
Éter de petróleo - Cloroformo	4:6	150
Cloroformo	100%	100
Cloroformo– Acetato de etilo	9:1	150

3.6.3.4. Cromatografía en columna de Cs₂

A. Preparación de muestra. Se preparó la muestra mezclándola con silicagel G60 hasta obtener una pasta homogénea.

B. Empaque de la columna cromatográfica. Se empaquetó la columna cromatográfica de 3 cm de diámetro y 60 cm de largo con silicagel G60 como fase estacionaria (Chianese et al., 2019), se compactó retirando los espacios de aire y se sembró la muestra preparada de Cs₂.

C. Desarrollo cromatográfico. Se realizó la elusión con mezclas de éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo en polaridad creciente, como se describe en la Tabla 9, se obtuvieron 100 eluatos que después fueron analizados por TLC

Tabla 9

Fase móvil utilizada en la CC de Cs₂

Fase móvil	Proporción	Volumen (mL)
Éter de petróleo - Cloroformo	8:2	100
Éter de petróleo - Cloroformo	8:2	250
Éter de petróleo – Acetato de etilo	4:9	200
Acetato de etilo	100%	200

D. Análisis de los eluatos por TLC. Los eluatos obtenidos fueron monitoreados por TLC para poder reunirlos en sub-fracciones. Se sembró el primer eluato y luego los siguientes (cada cinco eluatos). Se utilizaron cromatofolios con silicagel 60 F₂₅₄ y como fase móvil mezclas de éter de petróleo y cloroformo según la Tabla 10. los cromatofolios se aspersaron con vainillina- ácido fosfórico, se calentaron a 105°C - 110°C en plancha de calefacción hasta la aparición de un color morado y se observaron en la lámpara UV-Visible a una longitud de onda de 365 nm.

Tabla 10*Fase móvil utilizada en las TLC de los eluatos obtenidos de Cs2*

Elutatos	Fase móvil	Proporción
1-15	Éter de petróleo - Cloroformo	6:4
16-30	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1
31-45	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1
46-60	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1
61-75	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1
76-90	Éter de petróleo - Cloroformo	1:1

E. Agrupación de sub-fracciones. Los eluatos se agruparon según los valores de R_f obtenidos en las TLC, obteniéndose 4 sub-fracciones (Cs2.1, Cs2.2, Cs2.3 y Cs2.4) como se observan en la Tabla 11. Cada sub-fracción se colocó en una placa Petri hasta la evaporación a sequedad del solvente, posteriormente se re-disolvió cada sub-fracción obtenida en cloroformo y se trasvasó a viales de color ámbar.

Tabla 11*Sub-fracciones a partir de eluatos obtenidos de Cs2*

Tubos	Sub-fracciones
1-29	Cs2.1
30-45	Cs2.2
46-60	Cs2.3
61-75	Cs2.4

Las sub-fracciones obtenidas de Cs2 (Cs_{2.1}, Cs_{2.2}, Cs_{2.3} y Cs_{2.4}), fueron analizadas por TLC con silicagel 60 F₂₅₄ y éter de petróleo – cloroformo [1:1], como revelador se usó H₂SO₄ al 5% - metanol. Posteriormente se enviaron a análisis por resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ¹H).

F. Análisis de las sub-fracciones por RMN ^1H . Las sub-fracciones Cs_{2.1}, Cs_{2.2}, Cs_{2.3} y Cs_{2.4} se concentraron a sequedad en un rotavapor, posteriormente se agregó 5 mL de cloroformo para análisis (P.A.) y se llevó a concentrar hasta sequedad total, este procedimiento se realizó 3 veces. Luego se redisolviaron las muestras con 5 mL de cloroformo deuterado (CDCl_3), con una pipeta Pasteur de tallo largo se tomó una alícuota y se llevó al tubo de RMN. Finalmente se tapó, etiquetó y se envió al análisis.

3.6.4. Metodología II

3.6.4.1. Tratamiento de extractos de semillas y cáscaras de frutos verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. Se trasladaron a los laboratorios de investigación en Productos Naturales de la Universidad de Chile, extractos crudos de semillas y cáscara de frutos verdes de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, las cuales se mantuvieron refrigeradas hasta su apertura.

A. Tratamiento de los extractos obtenidos a partir de semillas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. A los extractos de éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo obtenidos a partir de semillas de *Solanum grandiflorum* se les realizó un tratamiento previo de limpieza por ultracentrifugación, debido a su aspecto aceitoso.

Cada uno de los extractos fue centrifugado a 9000 RPM durante 20 minutos. Al finalizar, con ayuda de una pipeta Pasteur de vidrio de tallo corto se procedió a retirar el aceite sobrenadante de cada uno de los extractos.

B. Tratamiento de los extractos obtenidos a partir de cáscara de *Solanum grandiflorum*. Los extractos obtenidos a partir de cáscara de *Solanum grandiflorum* se llevaron a rotavapor para eliminar los posibles restos humedad y así evitar interferencias en las posteriores pruebas.

3.6.4.2. Fraccionamiento por cromatografía del extracto EA de semillas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

A. Preparación de la muestra. El EA-S se llevó a sequedad en rotavapor a 40°C, luego se realizaron pruebas de solubilidad, siendo la mezcla de éter de petróleo – diclorometano – metanol [3:2:1], el mejor disolvente. Se concentró a sequedad y se prepararon 36 mL de la mezcla seleccionada para disolver el EA - S, se filtró primero en algodón y luego en papel filtro Whatman número 40 de filtración rápida, se recogió el filtrado en un vaso de precipitado y se concentró hasta sequedad total en un rotavapor.

B. Cromatografía de exclusión molecular. Se utilizó una columna de 5 cm de diámetro y 1.5 m de largo, como fase estacionaria se usó Sephadex LH – 20, se llevó a acondicionamiento previo con 600 mL de la fase móvil, éter de petróleo – diclorometano – metanol [3:2:1], posteriormente, se realizó el lavado de tubos de recolección con la misma mezcla. La muestra se redisolvió en 18 mL de éter de petróleo – diclorometano – metanol [3:2:1] y se guardó un patrón comparativo para el análisis cromatográfico. La muestra se sembró en la columna, con la llave cerrada, lentamente con una pipeta Pasteur, posteriormente, se abrió la llave de la columna a razón de 1 gota cada 30 segundos, los eluatos se colectaron en los tubos previamente lavados. Se utilizaron 600 mL de fase móvil y se colectaron 60 eluatos.

Se analizaron los eluatos obtenidos por TLC, usando cromatofolios de silicagel 60 F₂₅₄ y como fase móvil éter de petróleo – acetato [7:3] y éter de petróleo – acetato [1:1]. El revelador utilizado fue H₂SO₄ al 5% - metanol, después de aspersar, se llevó a calentamiento a 100°C por 15 minutos, y se observaron en lámpara UV-visible a onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm), las manchas obtenidas fueron marcadas. Se reunieron los eluatos 17 al 39 (SE – 1) y del 40 al 46 (SE – 2) los cuales se trasvasaron a viales y se llevaron a sequedad utilizando el rotavapor. Se obtuvieron 2.1106 g de SE – 1 y 65.6 mg de SE – 2. Se decidió utilizar SE – 2,

debido a que durante el análisis en TLC realizado a SE – 1 se pudo observar manchas de grasa brillantes de gran tamaño al contacto con el revelador H₂SO₄ al 5% - metanol.

C. Cromatografía en columna con silicagel. Se llevó SE – 2 a una columna de 2.5 cm de diámetro y 50 cm de largo, usando como fase estacionaria gel de sílice gruesa. La muestra se preparó con SE – 2, diclorometano y gel de sílice, en un mortero. La elusión fue en gradiente, con volúmenes de 150 mL, como lo muestra la Tabla 12.

Tabla 12

Elusión en gradiente para el fraccionamiento con gel de sílice en SE - 2

N°	Fase móvil	Porcentaje
1	Éter de petróleo	100%
2	Éter de petróleo – Acetato de etilo	5%
3	Éter de petróleo – Acetato de etilo	10%
4	Éter de petróleo – Acetato de etilo	15%
5	Éter de petróleo – Acetato de etilo	20%
6	Éter de petróleo – Acetato de etilo	25%
7	Éter de petróleo – Acetato de etilo	30%
8	Éter de petróleo – Acetato de etilo	35%
9	Éter de petróleo – Acetato de etilo	40%
10	Éter de petróleo – Acetato de etilo	45%
11	Éter de petróleo – Acetato de etilo	50%
12	Éter de petróleo – Acetato de etilo	60%
13	Éter de petróleo – Acetato de etilo	70%
14	Éter de petróleo – Acetato de etilo	80%
15	Éter de petróleo – Acetato de etilo	90%
16	Acetato de etilo	100%
17	Metanol	100%

Se recolectaron 170 eluatos en tubos diferentes, todos se mantuvieron al ambiente para que el solvente se evapore espontáneamente.

Se analizaron los eluatos obtenidos por TLC, con fase estacionaria de silicagel 60 F₂₅₄. La fase móvil fue éter de petróleo – acetato al 50% [1:1]. El revelador fue H₂SO₄ al 5% - metanol. Se seleccionó la sub-fracción obtenida a partir de acetato de etilo 100% (SE – 2.1) con un peso de 30.1 mg.

D. Preparación de muestras para análisis por RMN ¹H. Se llevó a SE – 2.1 a análisis por RMN ¹H. La sub-fracción fue trasvasada a un vial previamente pesado y luego se llevó al rotavapor hasta sequedad, se agregó 5 mL de cloroformo para análisis (P.A.) y se llevó una vez más al rotavapor hasta lograr sequedad total, este procedimiento se realizó 3 veces. Finalmente, se redisolvió la sub-fracción con 5 mL de cloroformo deuterado, con una pipeta Pasteur de tallo largo se tomó una alícuota, se llevó al tubo de RMN y se envió al análisis.

3.6.4.3. Fraccionamiento por cromatografía del extracto EA de cáscara del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

A. Preparación de la muestra. El extracto EA - C se concentró hasta sequedad en un rotavapor, a 40°C y 100 RPM. Se realizó la primera prueba de solubilidad en metanol. Se redisolvió la muestra en metanol y se llevó a filtrar en algodón y luego en papel filtro Whatman número 40 de filtración rápida.

B. Cromatografía de exclusión molecular. En una columna de 3.5 cm de diámetro y 1.2 m de largo, se utilizó Sephadex LH – 20 como fase estacionaria, se acondicionó con 200 mL de metanol. Los tubos de recolección se lavaron con metanol. La muestra se sembró en la columna lentamente con un gotero Pasteur con la llave cerrada, posteriormente, se abrió la llave de la columna a razón de 1 gota cada 30 segundos y se colectó en los tubos previamente lavados. Se utilizaron 600 mL de metanol como fase móvil, se colectaron en total 84 eluatos.

Se realizó el análisis de eluatos obtenidos por TLC con silicagel 60 F254 como fase estacionaria y éter de petróleo – acetato al 15% [8.5:1.5] como fase móvil. El revelador utilizado fue H₂SO₄ al 5% - metanol, después de aspersar, se llevaron los cromatofolios a calentamiento a 100°C por 15 minutos. Se observaron con lámpara UV-visible en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm), las manchas obtenidas fueron marcadas. Finalmente, se concentró del eluato 30 al 45 en un vial nuevo, totalmente seco, donde se trasvasó la fracción y se llevó a sequedad utilizando el rotavapor. Se obtuvo 200 mg a partir de los eluatos 30 al 45 (CE – 1).

C. Cromatografía en columna con silicagel al vacío. La sub-fracción CE – 1 fue separada por cromatografía en columna (12 cm largo x 5 cm de diámetro) con silicagel y la fase móvil en gradiente como se observa en la Tabla 13. La muestra se mezcló con 2 g de silicagel y 5 mL de diclorometano, se homogenizó y se dejó evaporar el solvente en campana extractora. Se colocó la muestra preparada previamente en la columna para su separación y se comenzó a verter la fase móvil en gradiente como lo muestra la Tabla 13. El volumen utilizado fue de 100 mL por cada fase móvil y se colectaron 11 eluatos.

Los eluatos obtenidos se analizaron por TLC con fase estacionaria de silicagel 60 F₂₅₄ y fase móvil, éter de petróleo – acetato al 50% [1:1]. El revelador fue H₂SO₄ al 5% - metanol. Se tomaron los eluatos 10% - 20% (CE – 1.1), 60% - 70% (CE – 1.2) y 90% - 100% (CE – 1.3) como muestras para análisis por RMN ¹H.

Tabla 13

Fase móvil en gradiente para la separación con gel de sílice de CE - 1

N°	Fase móvil	Porcentaje
1	Éter de petróleo	100%
2	Éter de petróleo – Acetato de etilo	10%
3	Éter de petróleo – Acetato de etilo	20%
4	Éter de petróleo – Acetato de etilo	30%
5	Éter de petróleo – Acetato de etilo	40%
6	Éter de petróleo – Acetato de etilo	50%
7	Éter de petróleo – Acetato de etilo	60%
8	Éter de petróleo – Acetato de etilo	70%
9	Éter de petróleo – Acetato de etilo	80%
10	Éter de petróleo – Acetato de etilo	90%
11	Acetato de etilo	100%

3.6.4.4. Preparación de muestras para análisis por RMN ¹H. Se llevó CE – 1.1, CE – 1.2 y CE – 1.3 al análisis por RMN ¹H. Las sub-fracciones fueron trasvasadas a los viales previamente pesados y luego se concentraron hasta sequedad en el rotavapor. Posteriormente, se les agregó 5 mL de metanol para análisis (P.A.) y se les llevó una vez más a rotavapor hasta lograr sequedad total, este procedimiento se realizó 3 veces. Finalmente, se redisolviaron las sub-fracciones con 5 mL de metanol deuterado, con una pipeta Pasteur de tallo largo se tomó una alícuota que se llevó a tubos de RMN, y se enviaron para el análisis.

3.6.4.5. Fraccionamiento por cromatografía del extracto EC de cáscara del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. Se realizó una cromatografía en columna de exclusión molecular para el EC obteniéndose la fracción CE – 2 (60.5 mg), luego, a la fracción obtenida se le realizó una cromatografía al vacío donde se obtuvieron dos sub-fracciones, de los eluatos 60% - 70% (CE – 2.1) y de 80% - 100% (CE – 2.2), que fueron

analizadas por RMN ¹H. Las condiciones cromatográficas en cada caso fueron las mismas que las empleadas con el extracto de EA.

3.6.4.6. Análisis por UHPLC-MS-MS del extracto de EA de las cáscaras del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. El extracto de EA obtenido a partir de la cáscara del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav fue disuelto en metanol para posteriormente ser analizado por Ultra High Performance Liquid Chromatography– Triple Quadrupole - Mass Spectrometer (UHPLC-Triple Quad-MS-MS) con ekspert 100-XL Autosampler acoplado a detector de masas ABSciex.

La separación cromatográfica fue en gradiente 0,1% ácido fórmico acuoso (solvente A) y acetonitrilo (solvente B), el flujo caudal de la fase móvil fue de 0.50 mL/min y el tiempo de corrida fue de 20 min, siendo el volumen de la muestra inyectada de 10 µL, a temperatura de 50°C. Este análisis se realizó en la Unidad Central de Instrumentación de la Universidad Católica de Chile.

Tabla 14

*Fase móvil para el análisis de EA obtenido de cáscara del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.*

	Tiempo de Retención (min)	Flujo (mL/min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
1	0.00	0.50	95	5
2	1.00	0.50	95	5
3	12.00	0.50	50	50
4	13.00	0.50	50	50
5	16.00	0.50	0	100
6	17.00	0.50	0	100
7	19.00	0.50	95	5
8	20.00	0.50	95	5

3.7. Análisis de datos

El análisis de los datos obtenidos por HPLC – MS – MS se realizó utilizando el equipo UHPLC-Triple Quad 4500-MS-MS marca AB Sciex Instruments con el software otorgado por la empresa. El análisis realizado por RMN se llevó acabo utilizando el equipo Bruker Avance III HD-400-RMN ^1H , con software propio del equipo otorgado por la empresa BRUKER.

IV. RESULTADOS

4.1. Pesos de los extractos obtenidos a partir de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

En las Tablas 15 y 16 se muestran los pesos de los extractos obtenidos a partir de las semillas y cáscaras del fruto de *Solanum grandiflorum*.

Tabla 15

Pesos de los extractos EP, EC, EA y EE a partir de semillas de Solanum grandiflorum

Extracto	Peso total (g)
Éter de petróleo (EP)	31.38
Cloroformo (EC)	26.54
Acetato de etilo (EA)	14.66
Etanol (EE)	8.59

Tabla 16

Pesos de los extractos EP, EC, EA y EE a partir de cáscaras de Solanum grandiflorum

Extracto	Peso total (g)
Éter de petróleo (EP)	3.89
Cloroformo (EC)	0.84
Acetato de etilo (EA)	0.38
Etanol (EE)	0.15

4.2. Tamizaje fitoquímico

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de semillas y cáscaras del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav se visualizan en las Tablas 17-19.

Tabla 17

Análisis fitoquímico de semillas, pulpa y cáscara del fruto verde Solanum grandiflorum Ruiz & Pav redissuelto en metanol.

Extractos \ Reactivos	Hojas	Semilla	Pulpa	Cáscara del fruto verde
Shinoda	-	-	-	-
Baljet	-	-	-	-
FeCl₃	+	+	+	++
Hidróxido de amonio	-	-	-	-
Liebermann–Burchard	+	-	-	-

Leyenda: (-) Negativo (+) Ligeramente positivo (++) Positivo (+++) Muy positivo

Tabla 18

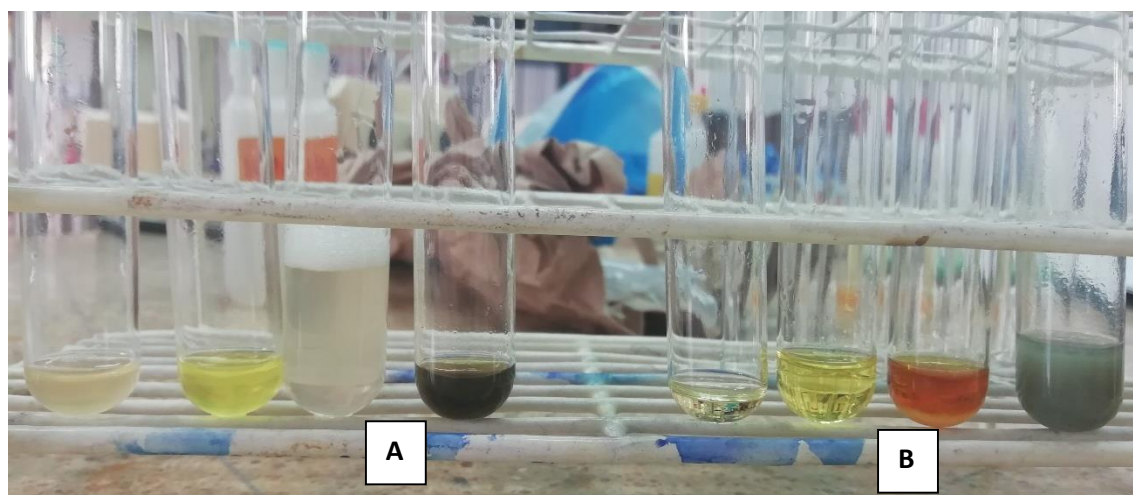
Análisis fitoquímico de hojas, semillas, pulpa y cáscaras del fruto verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav redissuelto en agua.

Extractos \ Reactivos	Hojas	Semillas	Pulpa	Cáscaras verdes
Shinoda	-	-	+	+
Baljet	-	-	-	-
FeCl₃	+	+	+	++
Hidróxido de amonio	-	-	-	-
Gelatina-Sal	-	-	++	+
Espuma	+	-	++	++

Leyenda: (-) Negativo (+) Ligeramente positivo (++) Positivo (+++) Muy positivo

Figura 28

Extracto de pulpa redisuelto en agua (A): reacción de Shinoda, Baljet, espuma y tricloruro férrico. Extracto de pulpa redisuelto en metanol (B): Shinoda, Baljet, hidróxido de amonio y tricloruro férrico.

**Tabla 19**

Reacción de Liebermann – Burchard en extractos de semillas y cáscaras del fruto verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.

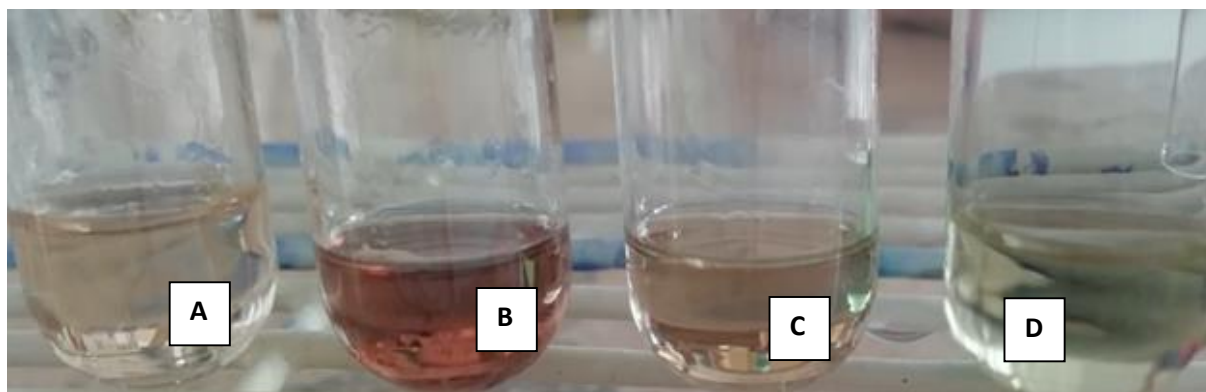
Extracto	Semilla	Cáscara
Éter de petróleo	+	-
Cloroformo	+++	++
Acetato de etilo	++	+
Etanol	-	-

Leyenda: (-) Negativo (+) Ligeramente positivo (++) Positivo (+++) Muy positivo

En la Figura 29 se puede apreciar el resultado del tamizaje fitoquímico detallado en la Tabla 19 para semillas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

Figura 29

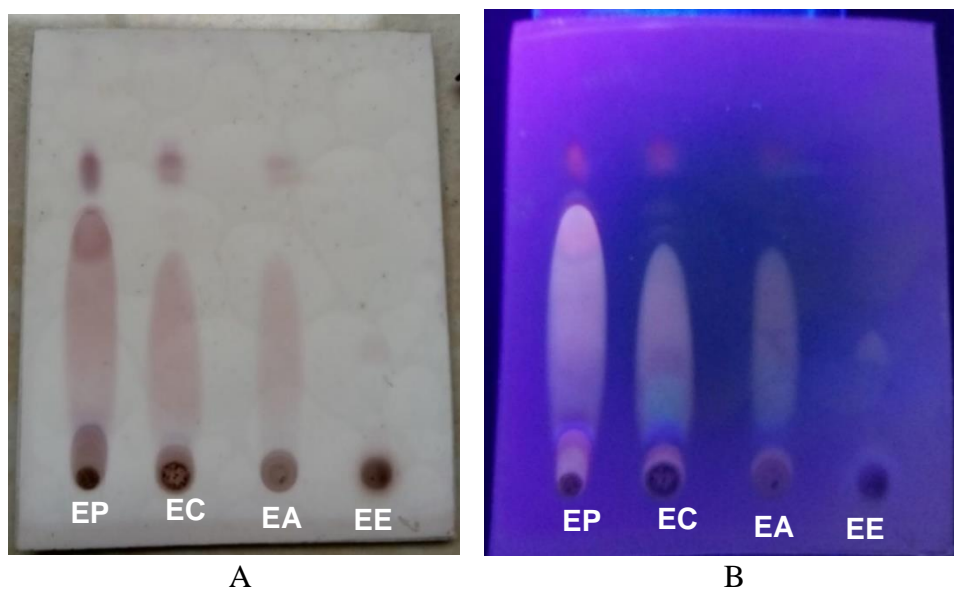
Reacción de Liebermann – Burchard para extracto de éter de petróleo (A), cloroformo (B), acetato de etilo (C) y etanol (D) de semillas del fruto verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav

**4.3. Metodología I****4.3.1. Cromatografía en capa fina (TLC) preliminar a EP, EC, EA y EE de las semillas de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.**

La selección de los extractos de EP, EC, EA y EE a fraccionar, obtenidos a partir de las semillas del fruto de *Solanum grandiflorum*, se realizó por TLC, los resultados obtenidos se observan en las Figuras 30 – 33.

Figura 30

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [3:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

**Figura 31**

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

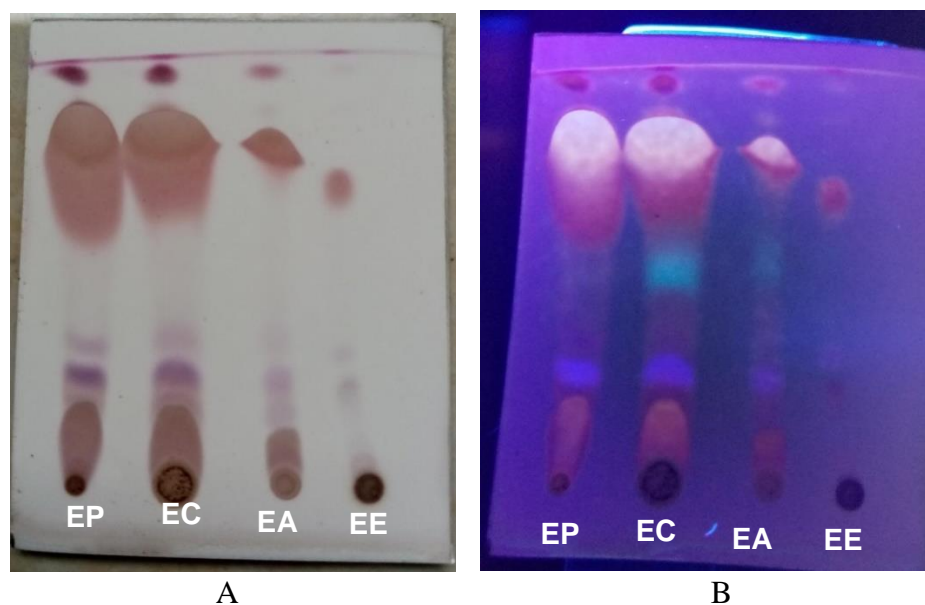
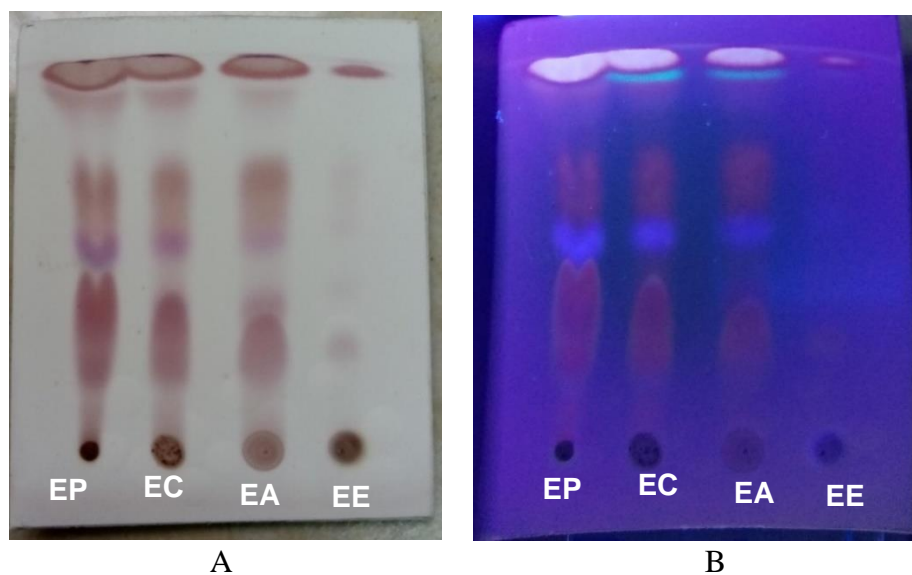
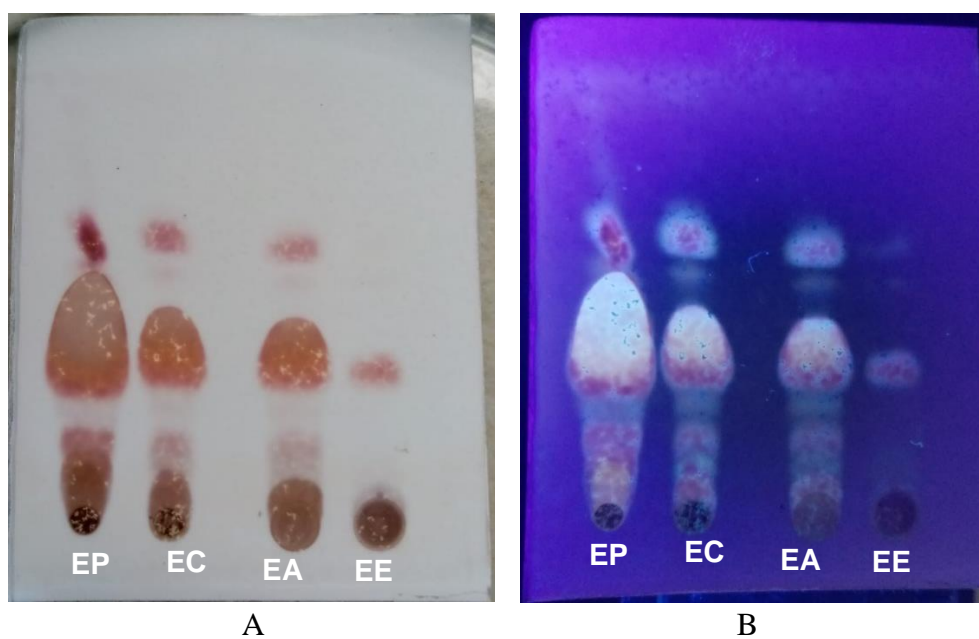


Figura 32

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm

**Figura 33**

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de semillas, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9.5:0.5] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.



Según los resultados, el extracto más enriquecido en terpenoides fue el extracto clorofórmico (EC), seguido por el extracto de acetato de etilo (EA), en menor medida el de éter de petróleo (EP).

4.3.2. Cromatografía en capa fina a EP, EC, EA y EE de las cáscaras de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

La selección de los extractos de EP, EC, EA y EE a fraccionar, obtenidos a partir de las cáscaras del fruto de *Solanum grandiflorum*, se realizó por TLC; los resultados obtenidos se observan en las Figuras 34 – 38

Figura 34

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

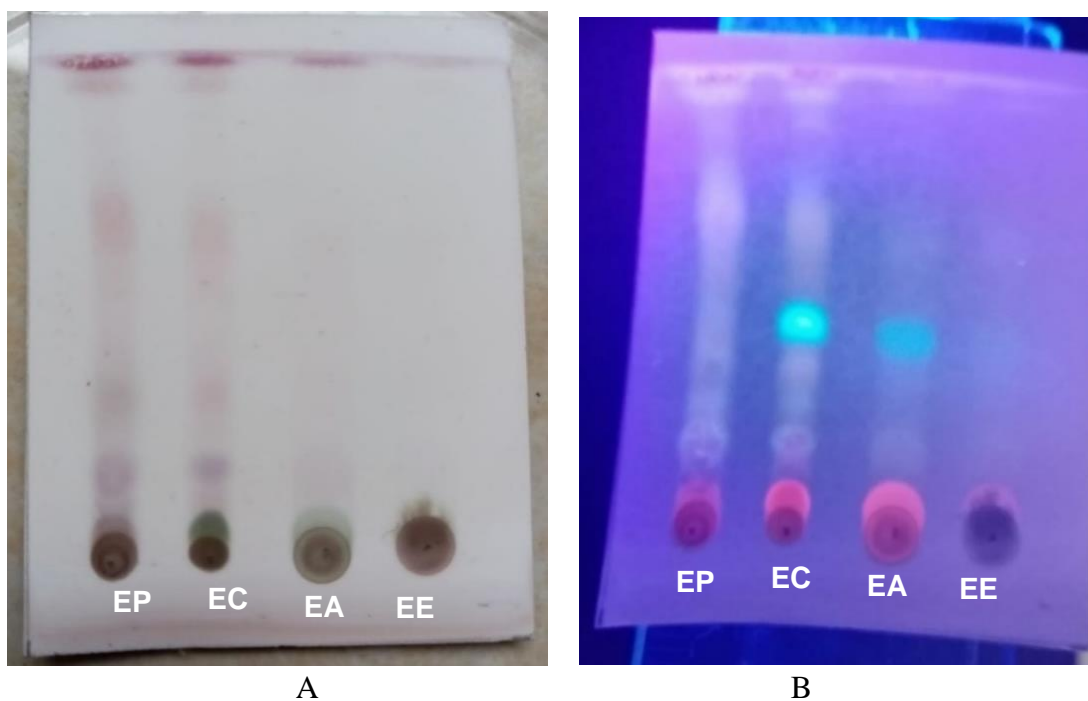
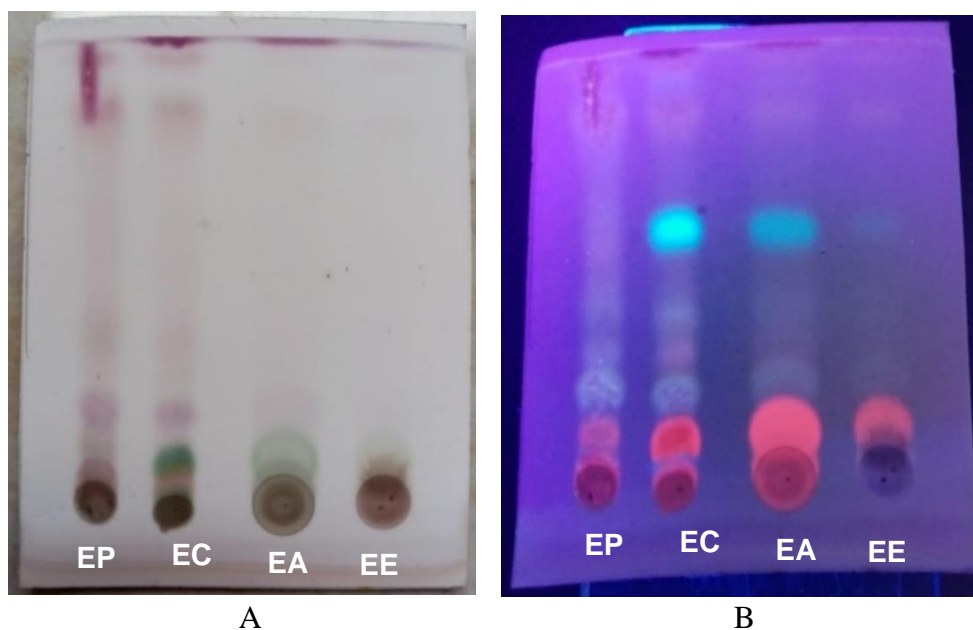


Figura 35

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – cloroformo [1:3] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

**Figura 36**

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [9:1] con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

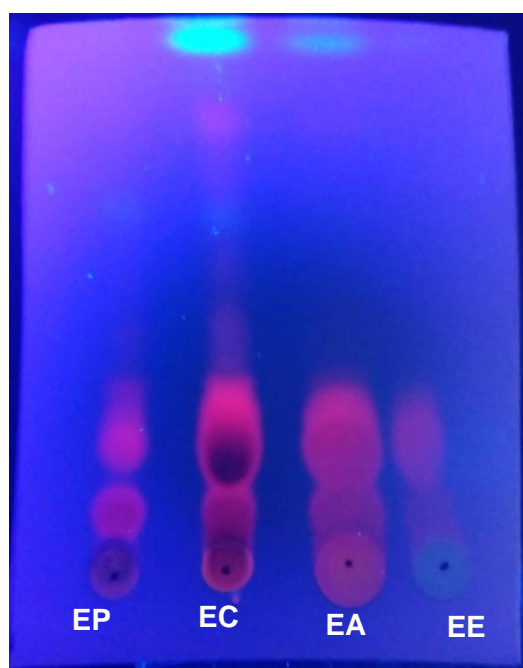
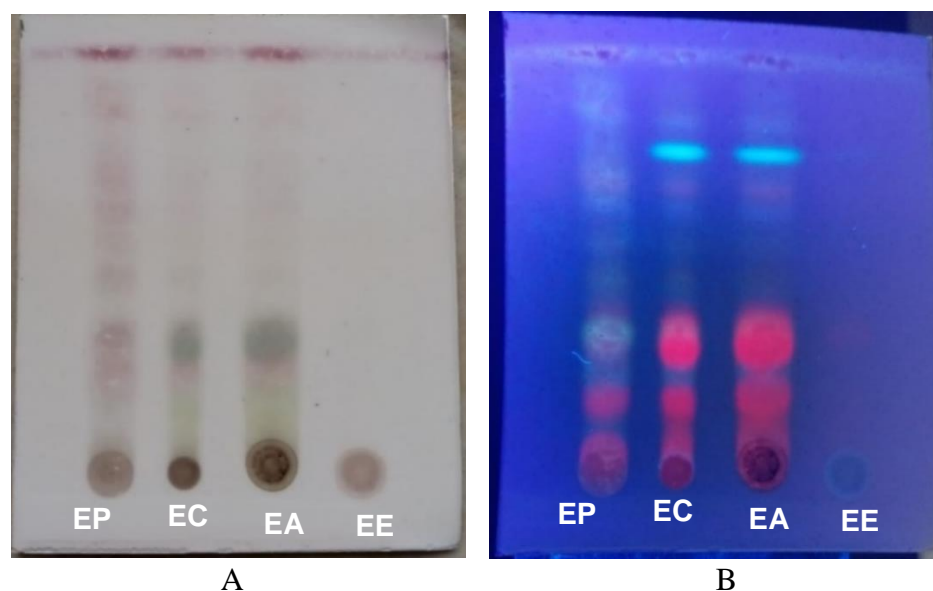
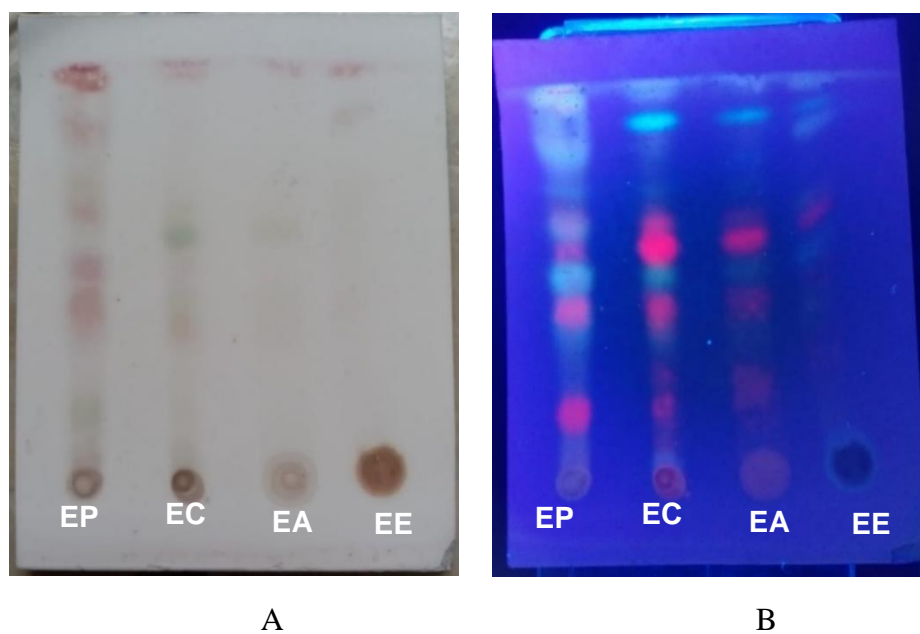


Figura 37

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [8.5:1.5] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.

**Figura 38**

TLC con extractos de EP, EC, EA y EE de cáscaras, fase estacionaria silicagel y fase móvil éter de petróleo – acetato de etilo [4:1] (A) con revelador ácido fosfórico-vainillina al visible (B) con revelador ácido fosfórico-vainillina a 365 nm.



El extracto más enriquecido en terpenoides fue el extracto de acetato de etilo, seguido por el extracto clorofórmico y en menor medida el de éter de petróleo.

A partir de esta información, se decidió fraccionar en el laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional Federico Villarreal, el extracto clorofórmico (EC) y de acetato de etilo (EA) de semillas (S), ésta se realizó por columna cromatográfica usando gel de sílice G60 con fase móvil. A partir de EA – S se obtuvo la sub-fracción Cs2.

4.3.4. Cromatografía en columna de silicagel a la sub-fracción Cs2 obtenida a partir de EA – S de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

Los eluatos de la CC del EC de las semillas del fruto de *Solanum grandiflorum*, se analizaron por TLC, los resultados obtenidos se observan en las Figuras 39 – 48.

Figura 39

TLC de eluatos 15 a 30, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible

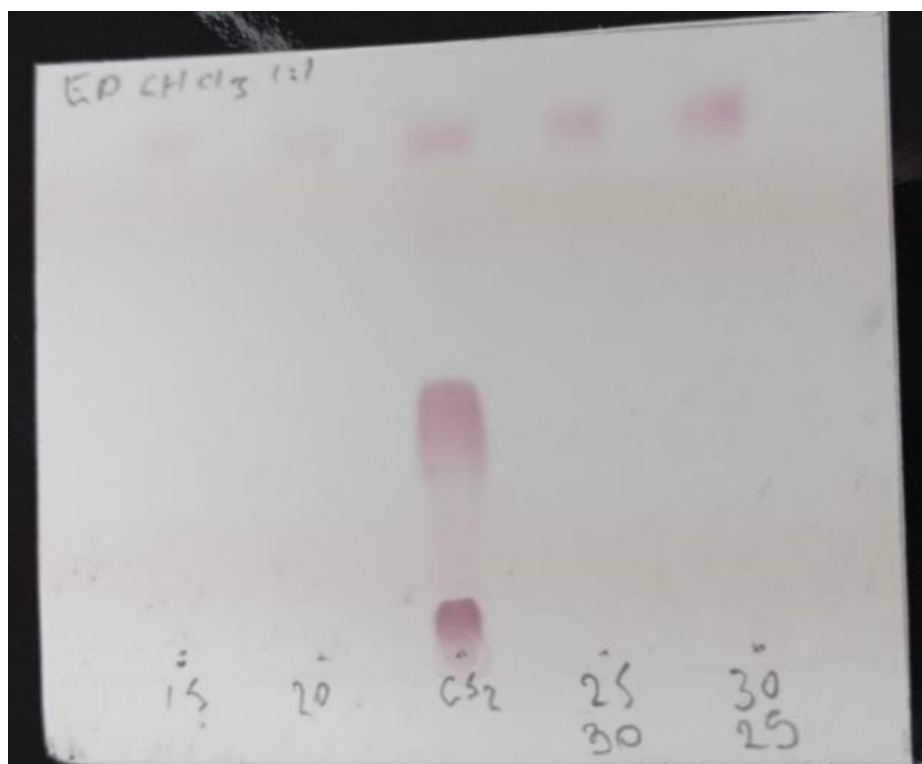
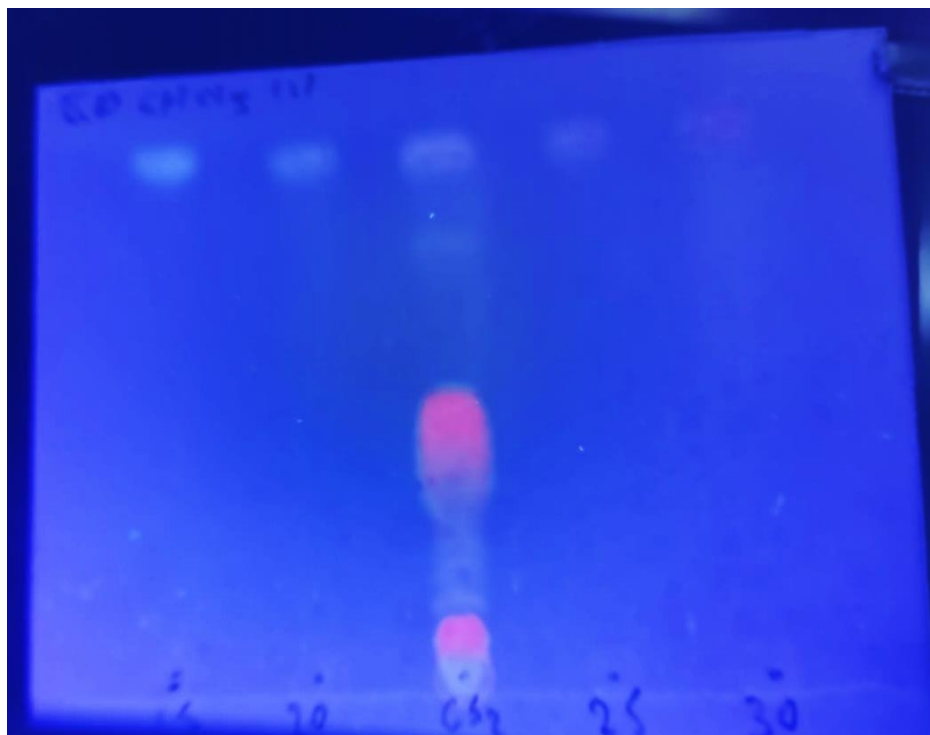


Figura 40

TLC de eluatos 15 a 30, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm

**Figura 41**

TLC de eluatos 30 a 45, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.

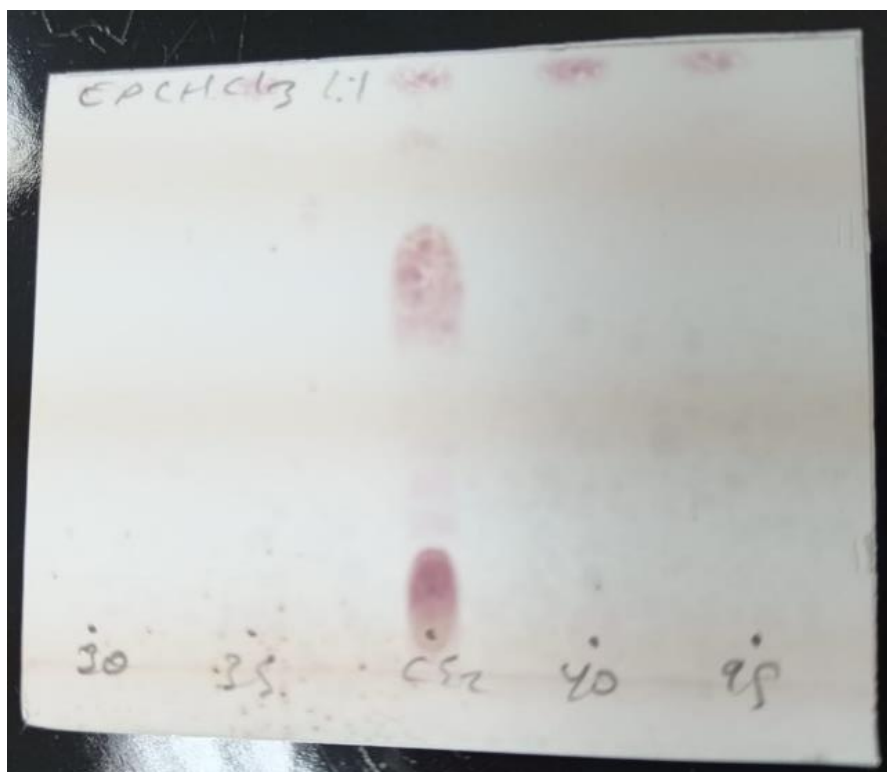
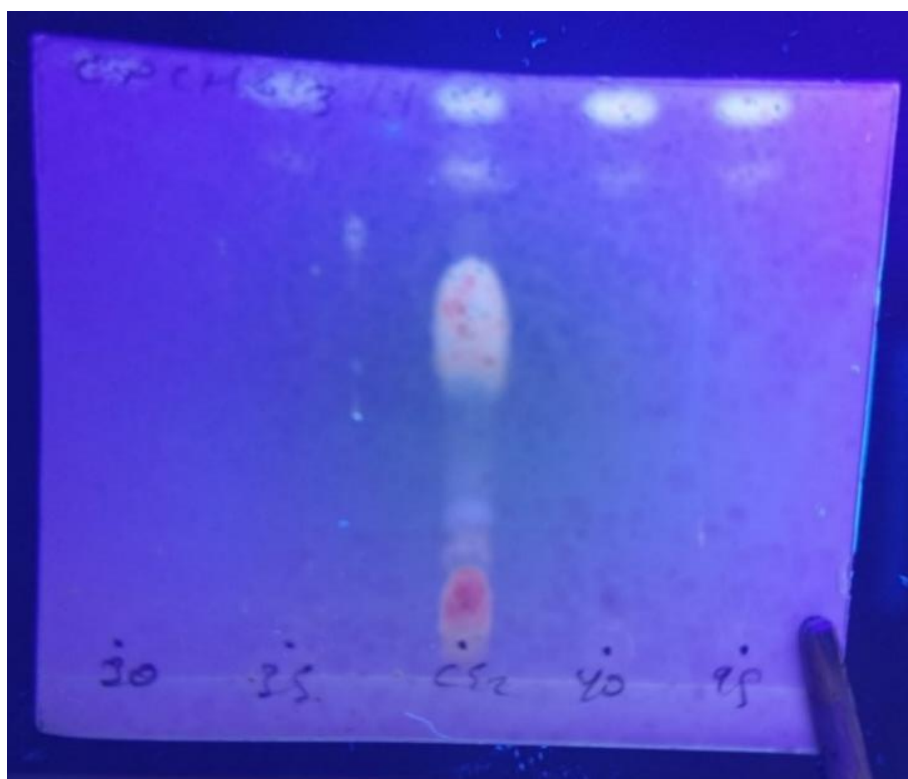


Figura 42

TLC de eluatos 30 a 45, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm

**Figura 43**

TLC de eluatos 45 a 60, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.

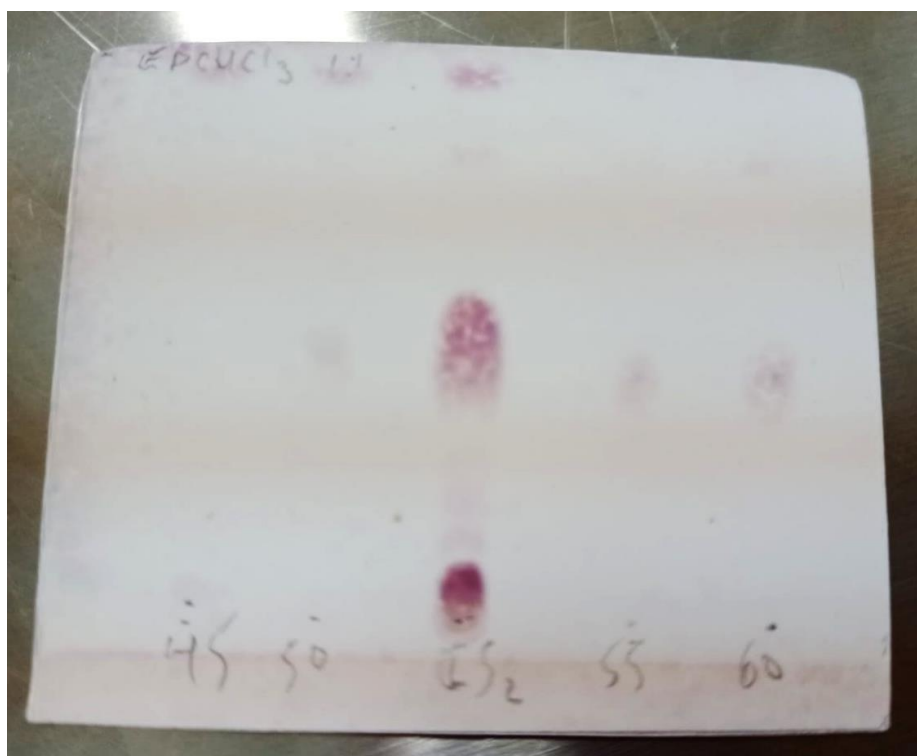
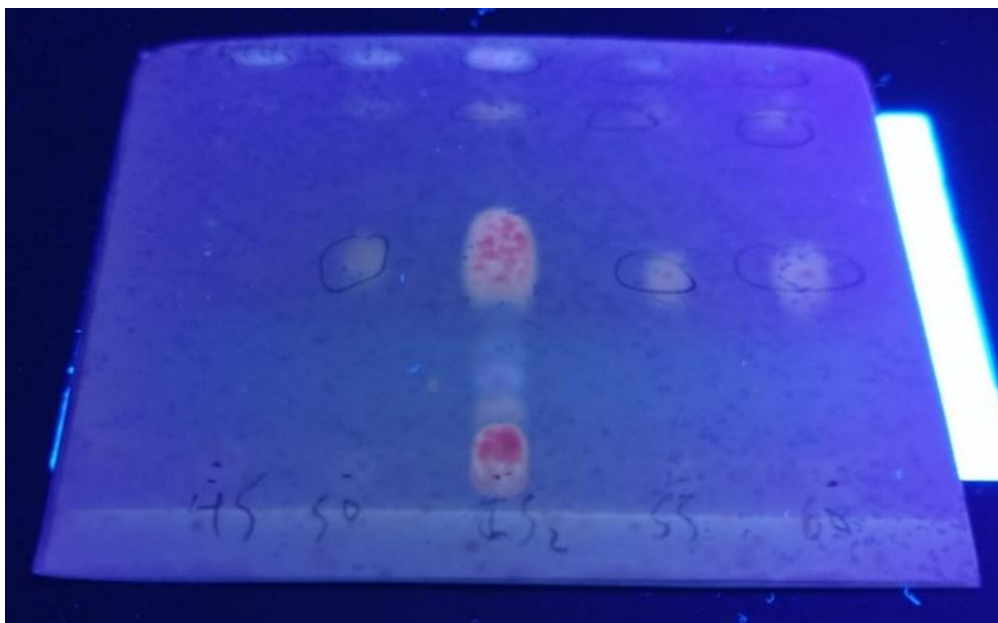


Figura 44

TLC de eluatos 45 a 60, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm.

**Figura 45**

TLC de eluatos 60 a 75, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.

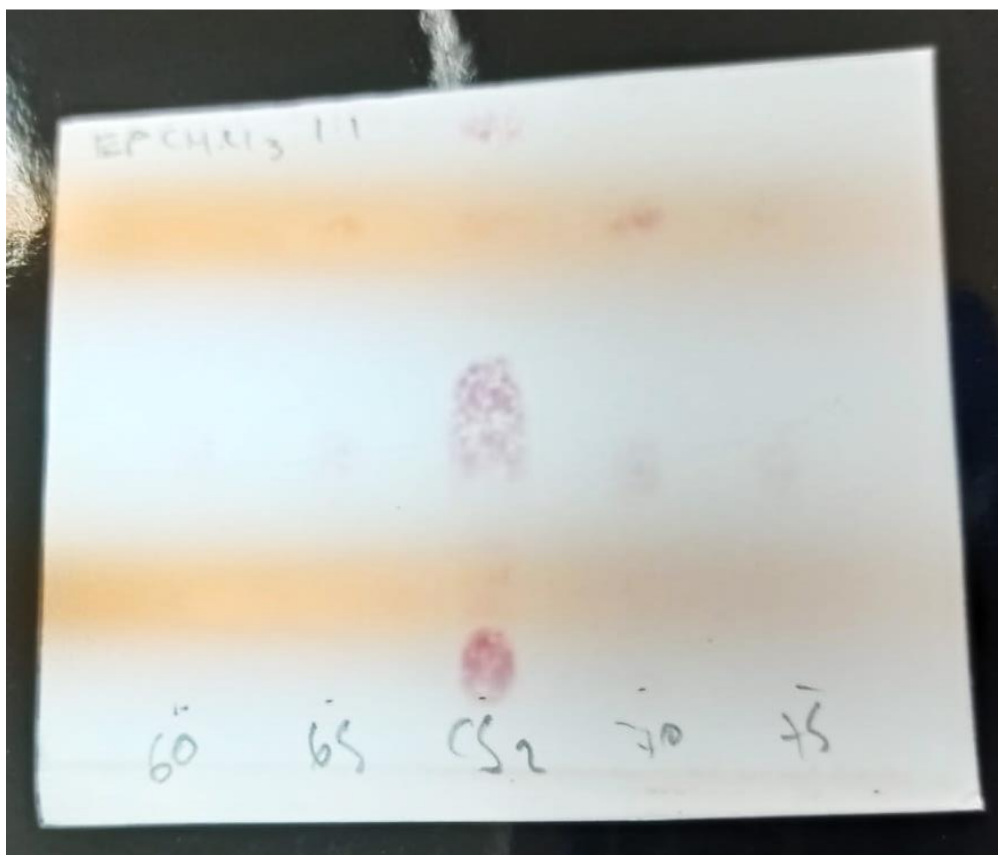
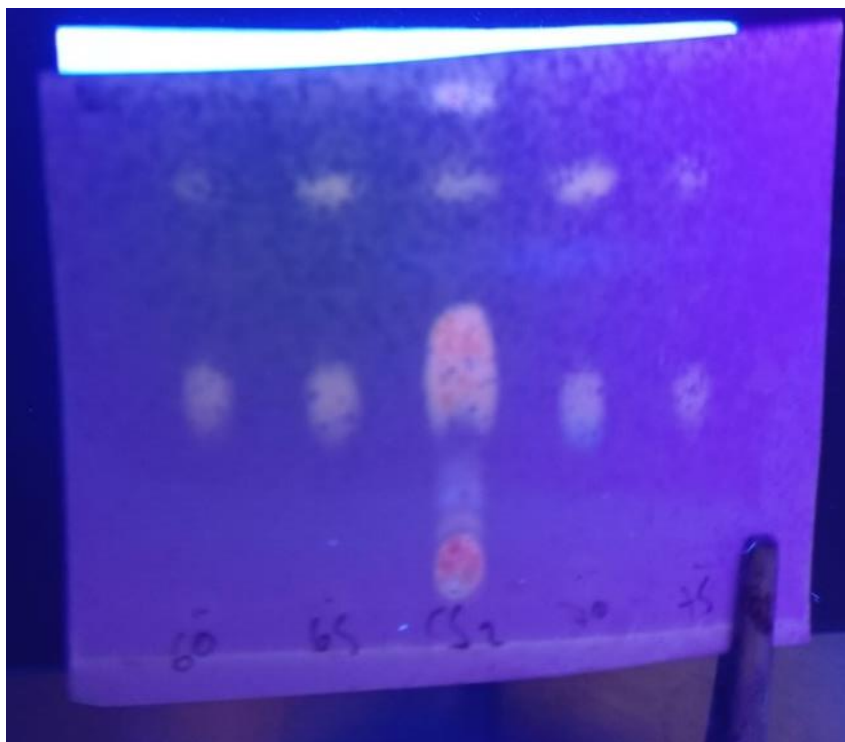


Figura 46

TLC de eluatos 60 a 75, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm

**Figura 47**

TLC de eluatos 75 a 90, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, al visible.

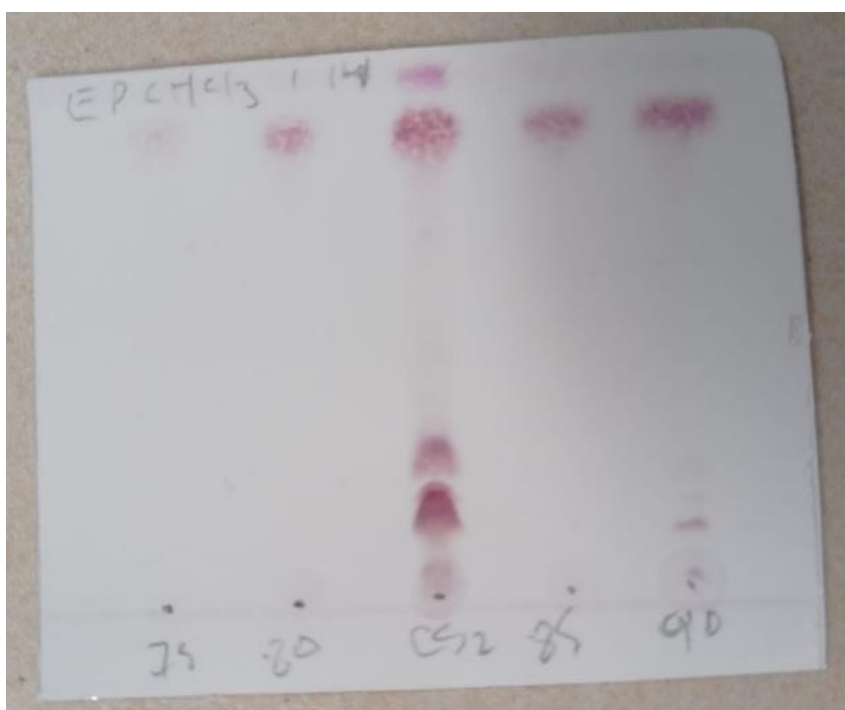
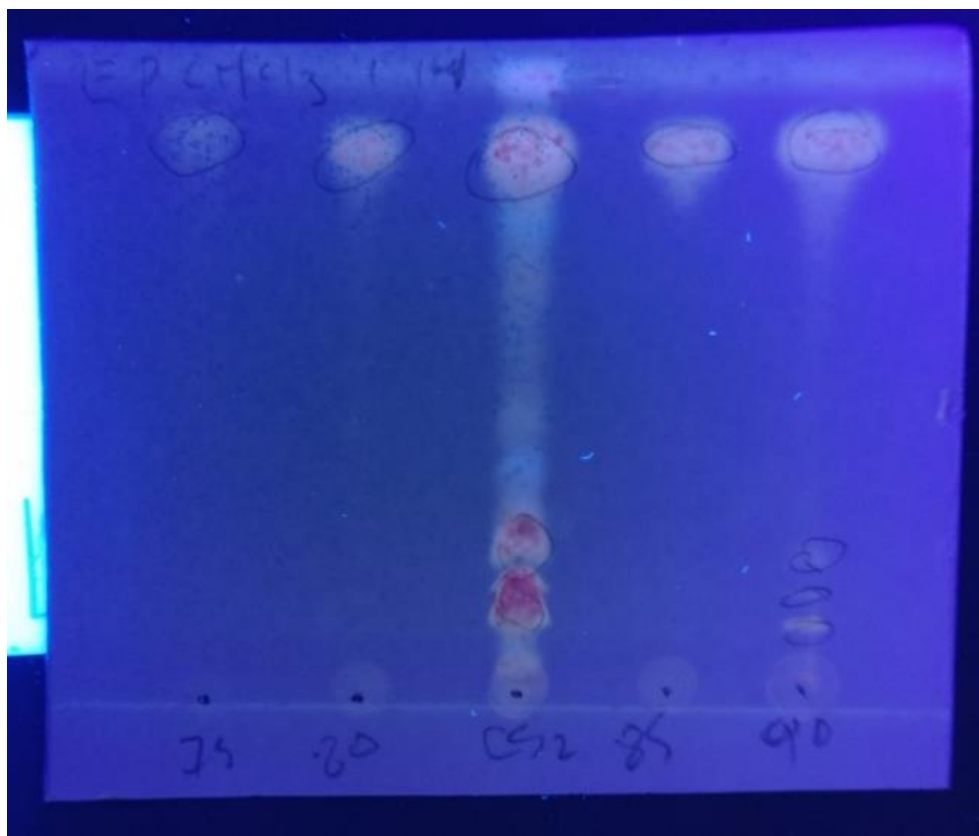


Figura 48

TLC de eluatos 75 a 90, después de ser revelados con vainillina-ácido fosfórico, a 365 nm.

**Tabla 20**

Fracciones obtenidas a partir de EC-S de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

Sub fracciones	Peso total (mg)
Bs 3	6.4
Bs 4 y 5	110.1
Bs 6	20.5
Bs 7	0.7

En la Tabla 20, se pueden apreciar las fracciones obtenidas a partir de EC de semillas del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, fueron agrupadas mediante su Rf.

Tabla 21

Fracciones obtenidas a partir de EA-S de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav

Sub-fracciones	Peso total (mg)
Cs 1	12.6
Cs2	4331

En la Tabla 21, se observan las fracciones obtenidas a partir de EA de semillas del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav la segunda fracción (Cs2) tuvo un peso mayor en comparación a la primera fracción (Cs1), por esta razón, se decidió realizar un segundo fraccionamiento, esta vez a Cs2.

Tabla 22

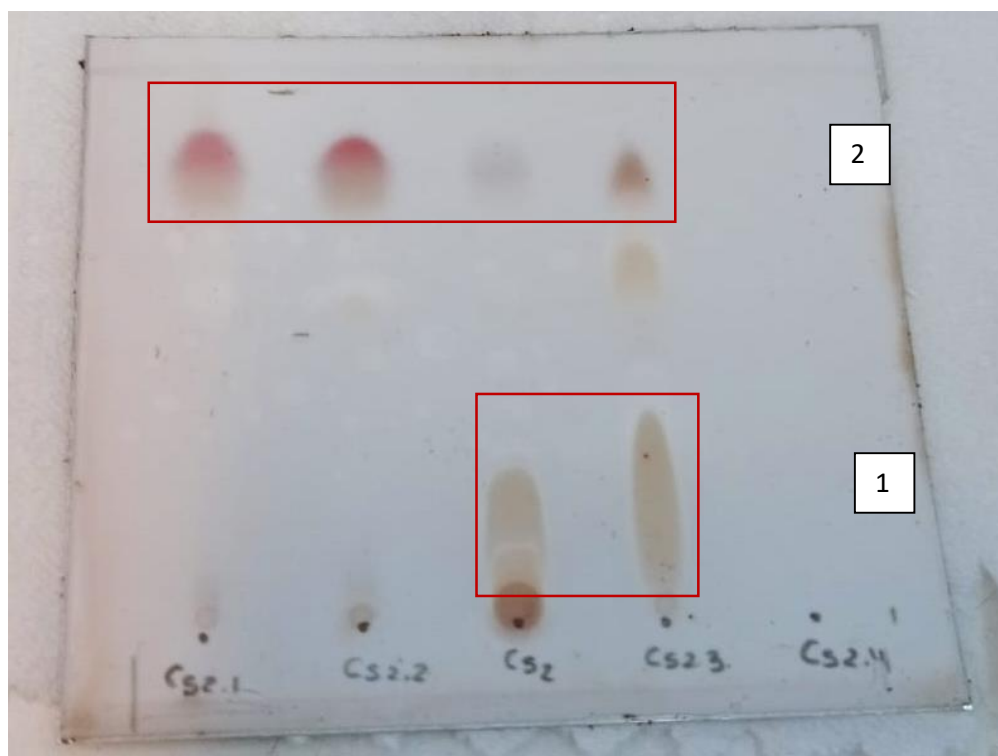
Sub-fracciones obtenidas a partir de Cs2 del extracto EA-S

Sub-fracciones	Peso total (mg)
Cs 2.1	18.1
Cs 2.2	25.4
Cs 2.3	43.1
Cs 2.4	0.8

En la Tabla 22, se observan los pesos de las sub-fracciones obtenidas a partir de Cs2, éstas fueron llevadas a la Universidad de Chile donde se realizó un TLC que mostró 2 grupos separados de manchas de coloración intensas y con diferentes valores de Rf que se llamaron Grupo 1 y el Grupo 2 (Figuras 49-51).

Figura 49

TLC de sub-fracciones Cs2.1, Cs2.2, Cs2.3 y Cs2.4 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol

**Figura 50**

TLC de sub-fracciones Cs2.1, Cs2.2, Cs2.3 y Cs2.4 en lámpara UV a 254 nm.

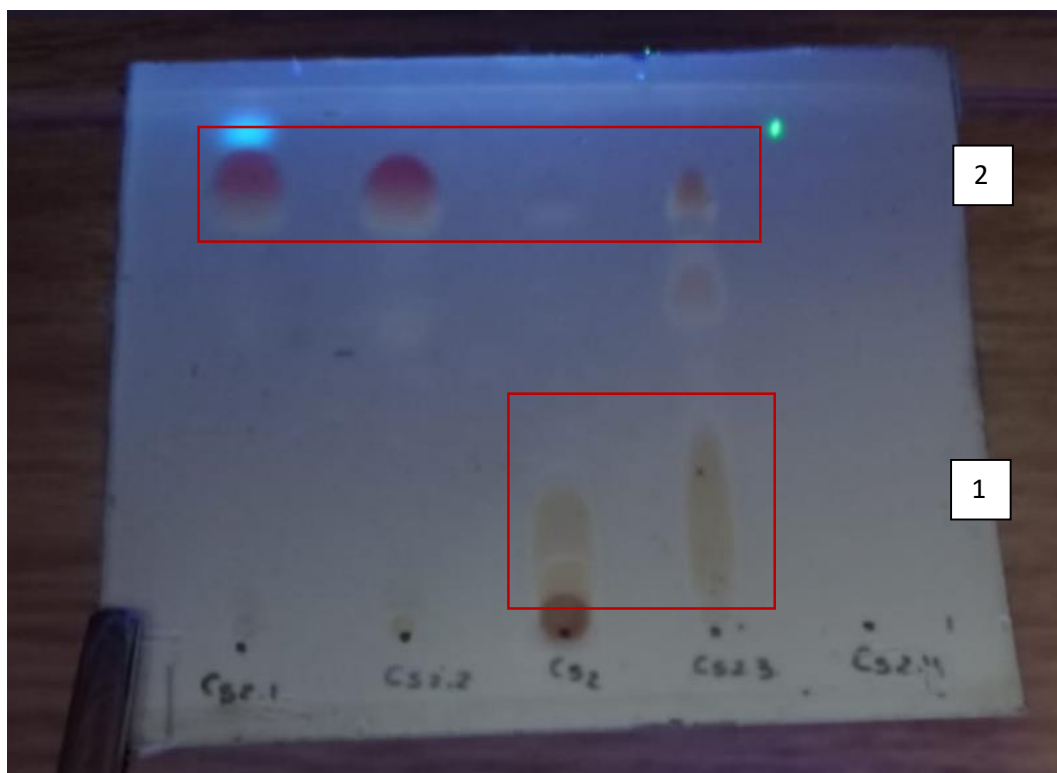
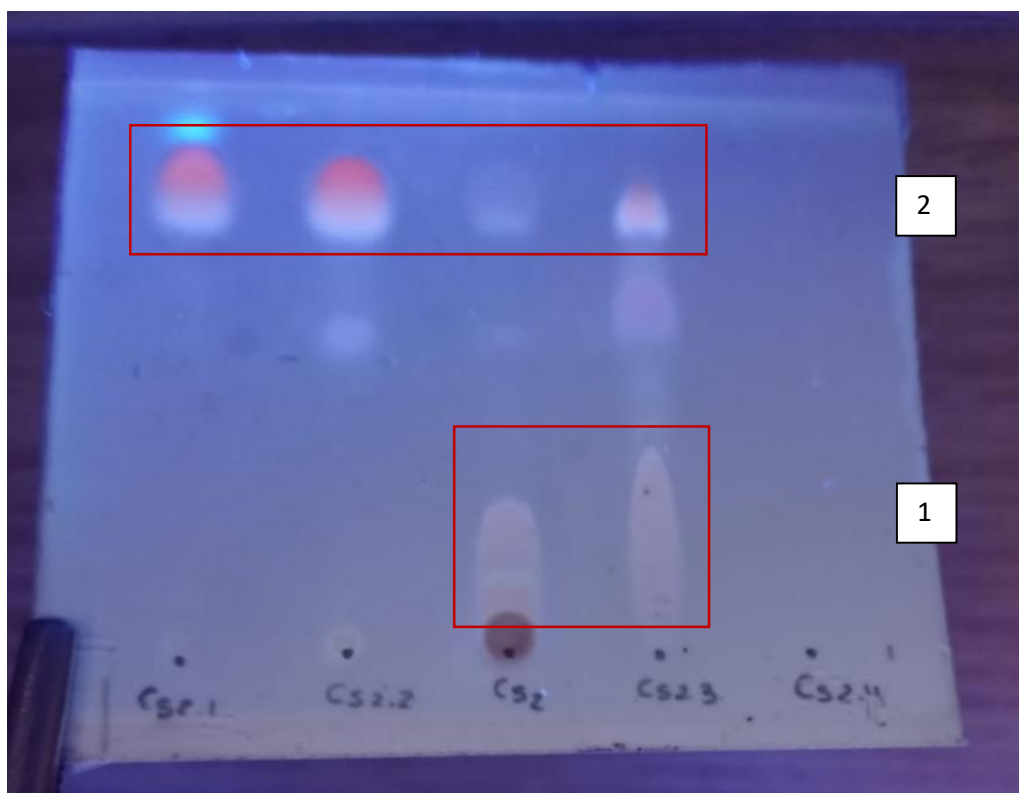


Figura 51

TLC de sub-fracciones Cs_{2.1}, Cs_{2.2}, Cs_{2.3} y Cs_{2.4} en lámpara UV a 365 nm.



Los Rf obtenidos con los grupos 1 y 2 se presentan en la Tabla 23.

Tabla 23

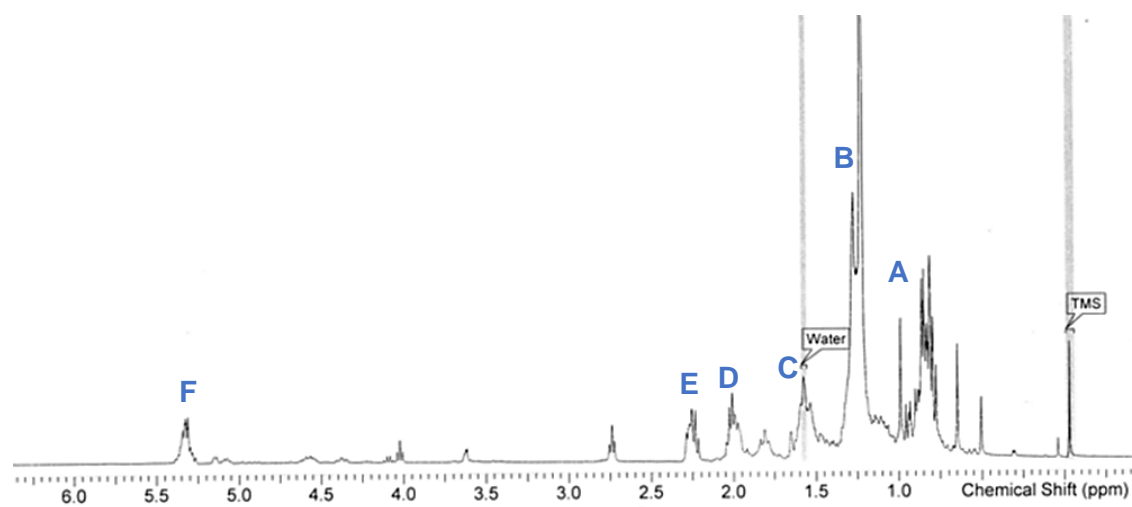
Rf de los grupos 1 y 2 obtenidos

Grupo	Rf
Grupo 1	0 – 1.5
Grupo 2	4

Los resultados del análisis por RMN ¹H de las sub-fracciones Cs_{2.1}, Cs_{2.2} y Cs_{2.3} dieron espectros que se encuentran en las Figuras 53-55.

Figura 52

Espectro de RMN ^1H de la sub-fracción Cs_{2.1}

**Figura 53**

Espectro de RMN ^1H de la sub-fracción Cs_{2.2}

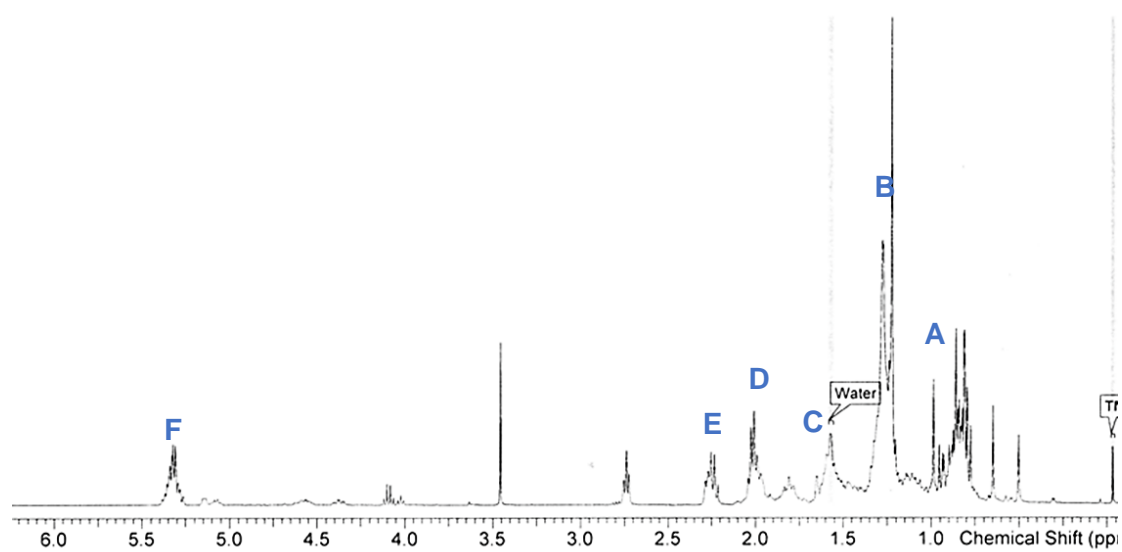


Tabla 24

Tabla de señales en los espectros de RMN ^1H de la sub-fracción Cs_{2.1}

Señal	d (ppm)	Protón (H)	Tipo de hidrógeno
A	0.81 – 0.99	$-\text{CH}_3$	Hidrógenos metílicos
B	1.22 – 1.27	$-(\text{CH}_2)-$	Hidrógenos metilénicos de ácidos grasos
C	1.54 – 1.60	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$)	Hidrógenos β – al grupo del ácido carboxílicos
D	2.01 – 2.03	$-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógenos alílicos externo
E	2.23 – 2.26	$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$	Hidrógenos metilénicos α vecino CO del ácido carboxílico
F	5.30 – 5.34	$-\text{HC}=\text{CH}-$	Hidrógenos olefínicos

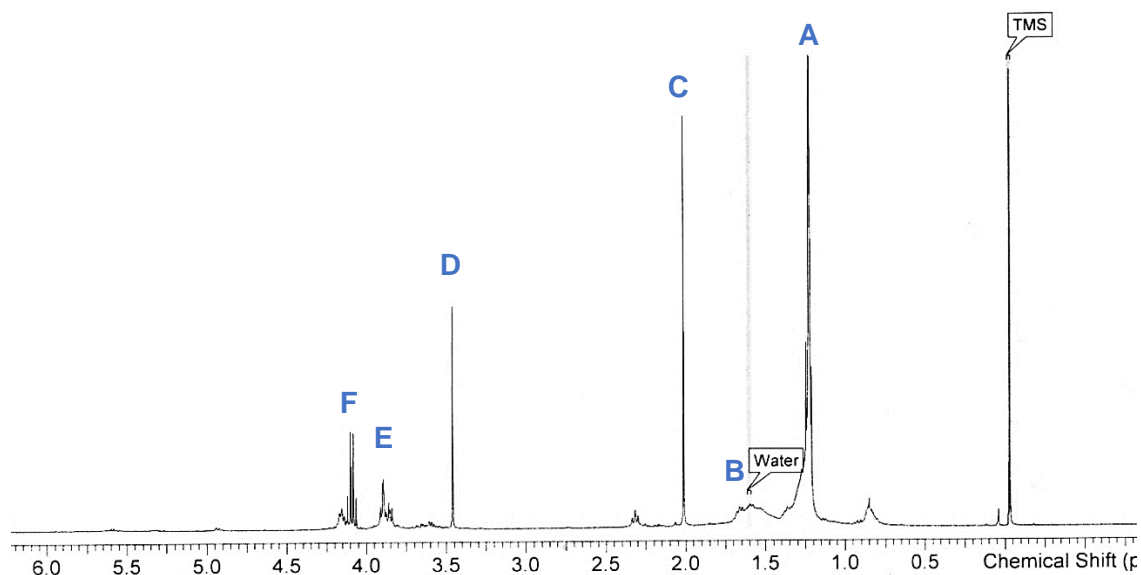
Tabla 25

Tabla de señales en los espectros de RMN ^1H de la sub-fracción Cs_{2.2}

Señal	d (ppm)	Protón (H)	Tipo de hidrógeno
A	0.86 – 0.88	$-\text{CH}_3$	Hidrógenos metílicos
B	1.20 – 1.28	$-(\text{CH}_2)-$	Hidrógenos metilénicos de ácidos grasos
C	1.51 – 1.59	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$)	Hidrógenos β – al grupo del ácido carboxílicos
D	2.01 – 2.04	$-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógenos alílicos externo
E	2.23 – 2.28	$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$	Hidrógenos metilénicos α vecino CO del ácido carboxílico
F	5.31 – 5.36	$-\text{HC}=\text{CH}-$	Hidrógenos olefínicos

Figura 54

Espectro de RMN ^1H de la sub-fracción $\text{Cs}_{2.3}$



La sub-fracción $\text{Cs}_{2.3}$ presentó un espectro de RMN ^1H diferente, los desplazamientos de las señales se observan en la Tabla 26.

Tabla 26

Desplazamientos (ppm) en RMN ^1H de la sub-fracción $\text{Cs}_{2.3}$

Señal	d (ppm)	Protón (H)	Tipo de hidrógeno
A	1.25 – 1.40	$-\text{CH}_3$	Hidrógenos metilénico
B	1.50 – 1.75	$-\text{H}_2\text{O}$	Hidrógenos provenientes de agua
C	2.0	$-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógenos alílicos externos
D	3.5	$-\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógeno de carbono doble enlace
E	3.75 – 4.0	$=\text{HC}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógenos alílicos internos
F	4.03 – 4.25	$-\text{HC}=\text{CH}-$	Hidrógenos olefínicos

4.4. Metodología II

En el caso de los extractos obtenidos a partir de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, se decidió realizar el fraccionamiento en el laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Chile debido al bajo rendimiento obtenido en peso, sobre todo por parte de los extractos obtenidos a partir de cáscara verde.

4.4.1. Fraccionamiento de extracto EA de semillas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

A. Cromatografía de exclusión molecular. Los eluatos obtenidos se analizaron por TLC con la fase móvil éter de petróleo – acetato [7:3], (Figura 56) se observó que a partir del eluato 17 aparece un grupo de manchas con el mismo Rf y con la misma coloración hasta el eluato 39.

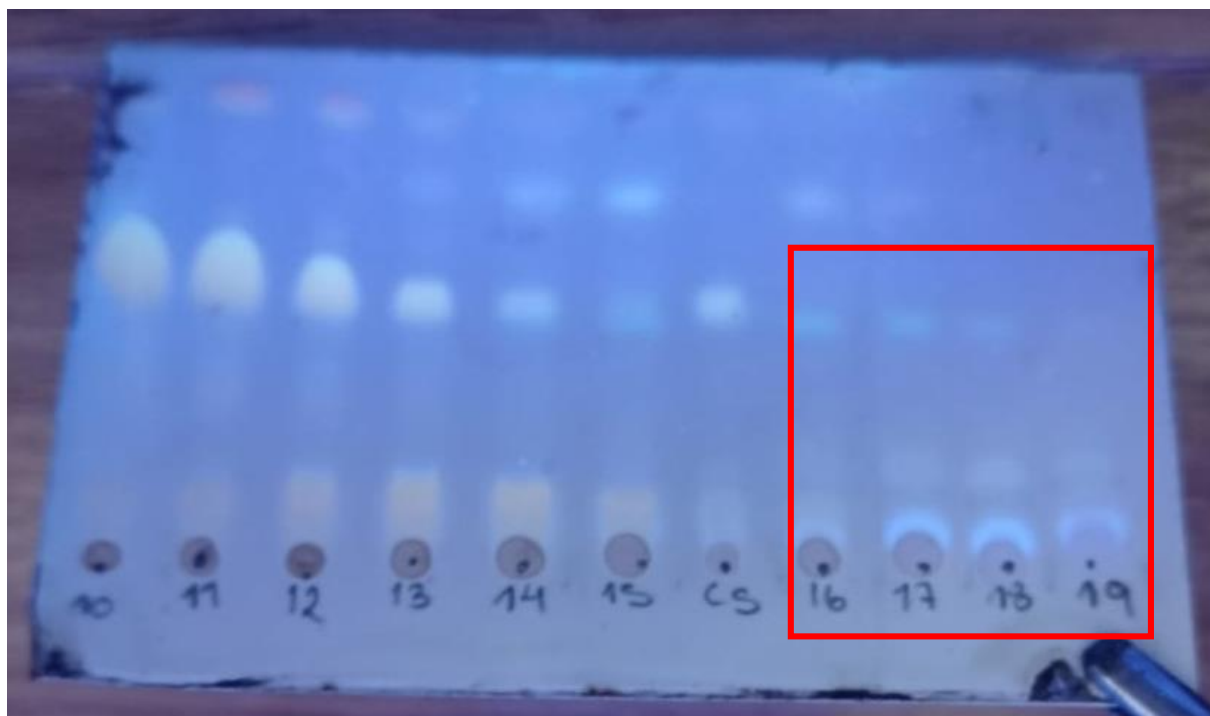
Figura 55

TLC de eluatos 10 al 19 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol.

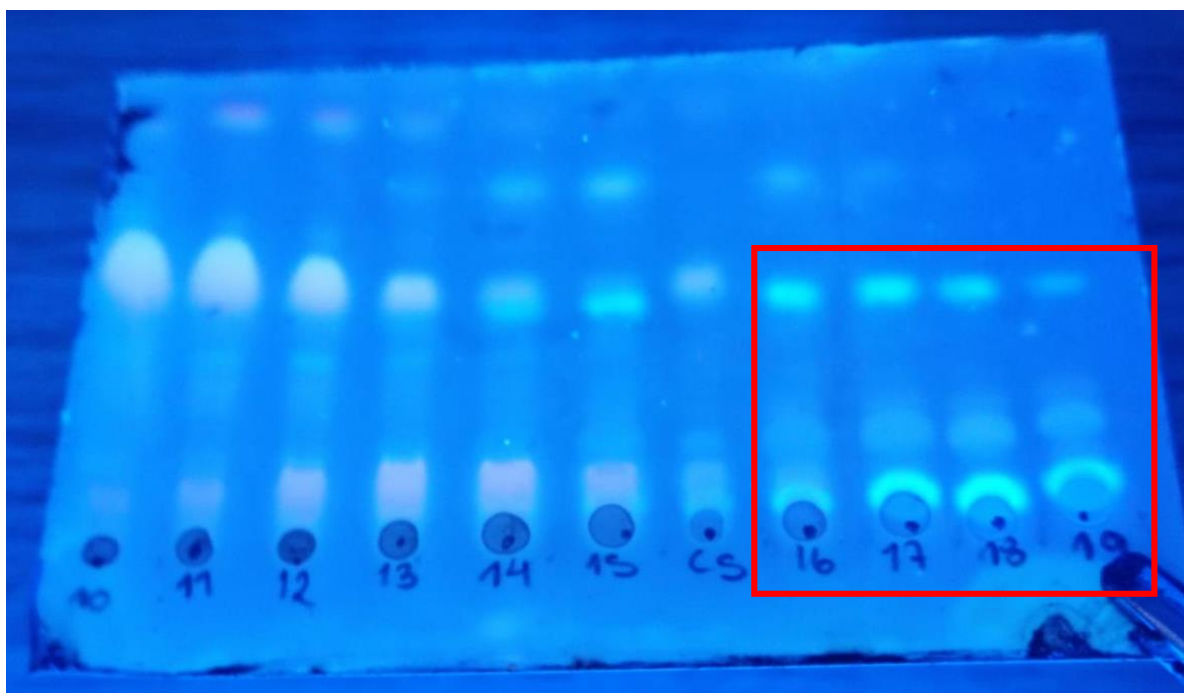


Figura 56

TLC de eluatos 10 al 19 en lámpara UV a 254 nm.

**Figura 57**

TLC de eluatos 10 al 19 en lámpara UV a 365 nm.



Por lo cual los eluatos se agruparon como SE – 1 (Figuras 56 y 57), a partir del eluato 40 no se apreciaban las manchas observadas previamente como en los eluatos 17 – 39 (Figura 58), por esa razón se dejó de recolectar eluatos.

Figura 58

TLC de eluatos 30 al 40 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol

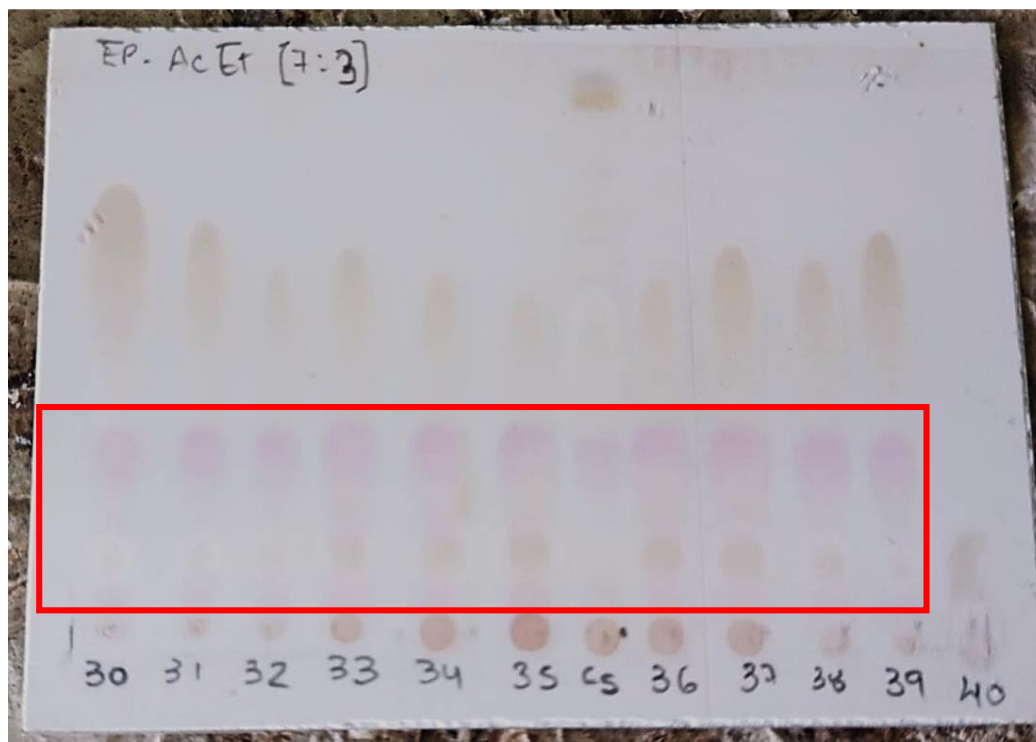


Figura 59

TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 254 nm.

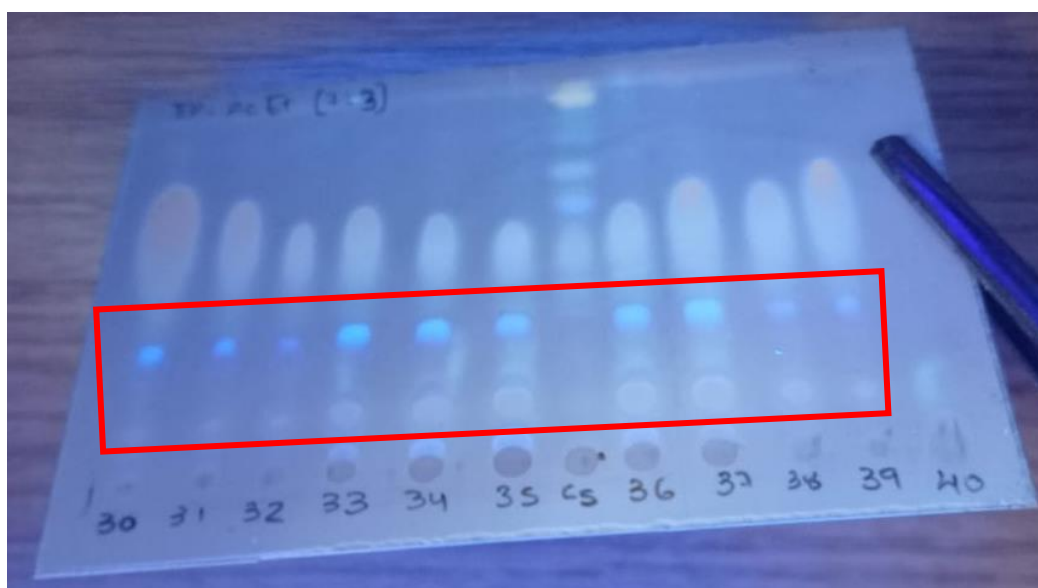
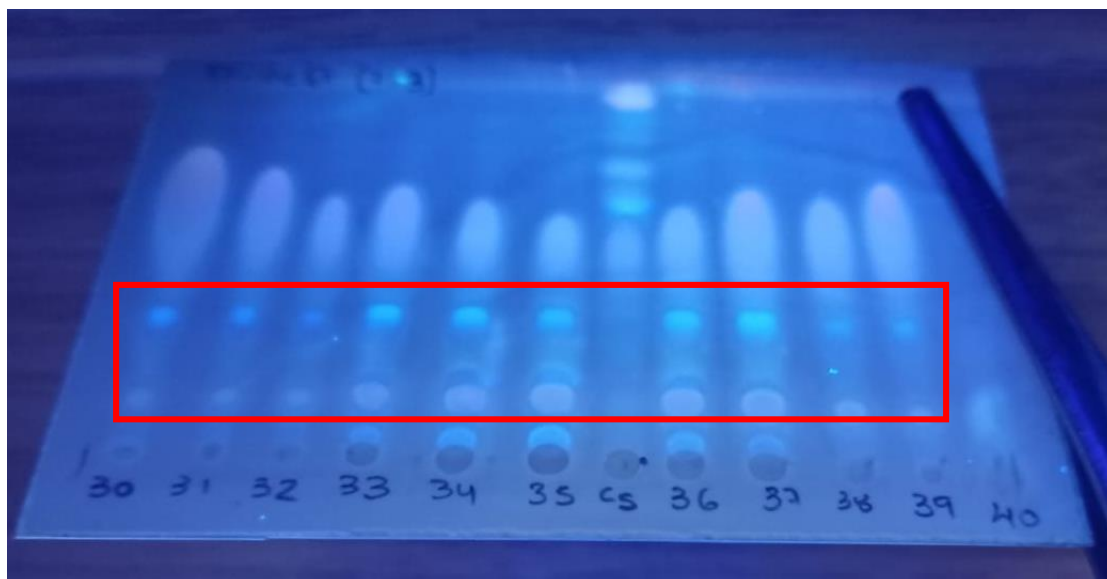


Figura 60

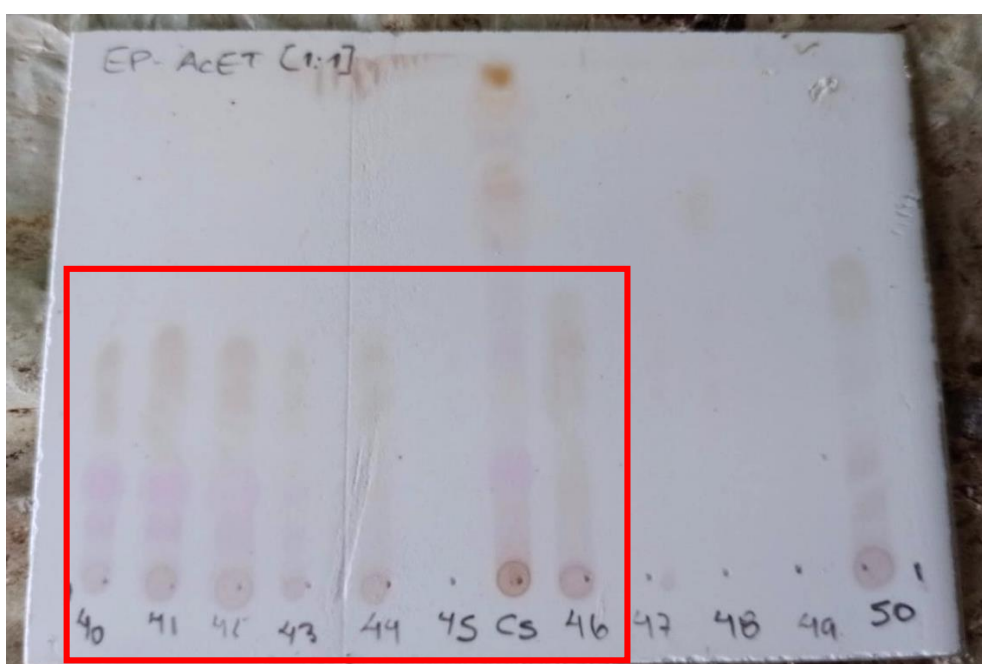
TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 365 nm.



Posteriormente, después de cambiar la fase móvil a éter de petróleo – acetato [1:1], se observó otro patrón, diferente al de SE – 1 (Figura 60). Como se visualiza en la Figura 61 a partir del eluato 40, se presentan manchas de tonalidad moradas con el mismo Rf y con la misma coloración hasta el eluato 46, siendo recolectados como una segunda fracción (SE – 2).

Figura 61

TLC de eluatos 40 al 46 con revelador H₂SO₄ al 5% - metanol.



B. Fraccionamiento de SE – 2 por cromatografía de exclusión molecular. Se fraccionó SE – 2, y no se observaron manchas después del revelado (Figura 62), excepto en el eluato obtenido con acetato de etilo al 100% (SE – 2.1) como se observa en la Figura 63.

Figura 62

TLC de eluatos 1 al 90 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol.

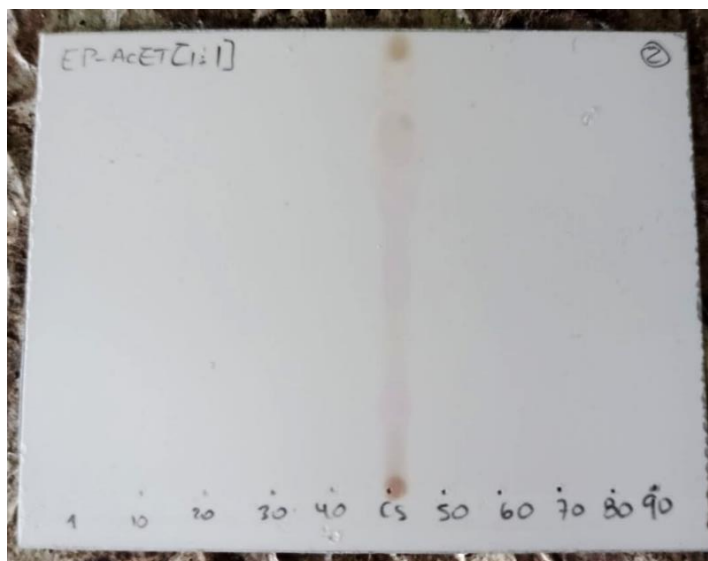


Figura 63

TLC de sub – fracciones de acetato 100% y metanol 100% con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol.



C. **Análisis por RMN ^1H .** La sub-fracción obtenida SE – 2.1 dio el espectro de la Figura 64. Los desplazamientos se observan en la Tabla 27.

Figura 64

Espectro de RMN ^1H de la sub-fracción SE – 2.1.

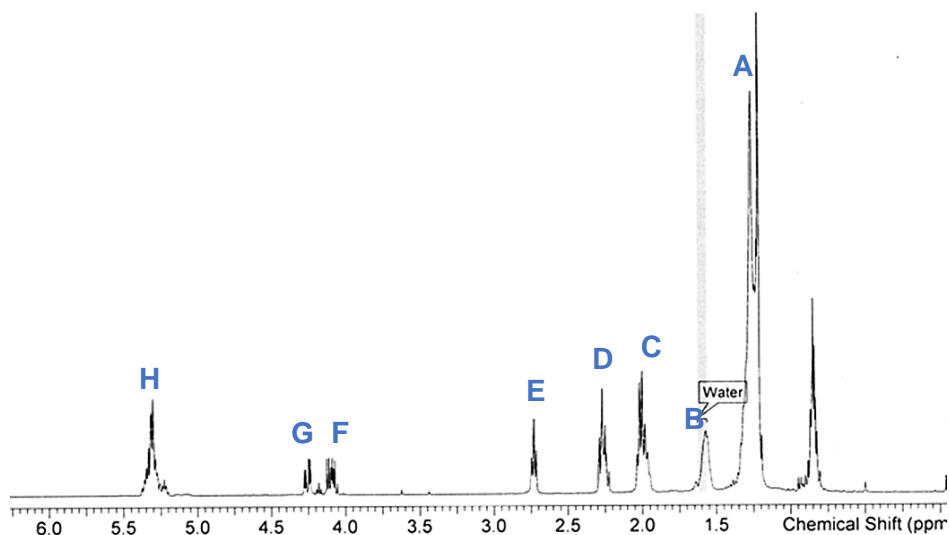


Tabla 27

Tabla de señales en los espectros de RMN ^1H de la sub-fracción SE – 2.1

Señal	d (ppm)	Protón (H)	Grupo funcional
A	1.32 – 1.33	$-(\text{CH}_2)_n-$	Hidrógenos metilénicos de ácidos grasos
B	1.56 – 1.58	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$	Hidrógenos β – al grupo del ácido carboxílicos
C	1.96 – 2.04	$-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$	Hidrógenos alílicos externo
D	2.22 – 2.29	$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$	Hidrógenos metilénico vecino al carbono del ácido carboxílico
E	2.72 – 2.75	$=\text{HC}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$	Hidrógenos alílicos internos
F	4.07 – 4.13	$-\text{CH}_2\text{OCOR}-$	Hidrógenos α
G	4.24 – 4.28	$-\text{CH}_2\text{OCOR}-$	Hidrógenos α
H	5.27 – 5.35	$-\text{CHOCOR}$	Hidrógeno β

Nota: Hidrogenos α y β : provenientes del esqueleto de glicerol. Adaptado de Barison et al., 2010.

4.4.2. Cromatografía del extracto EA de cáscaras de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

A. **Cromatografía de exclusión molecular.** Del fraccionamiento por exclusión molecular con Sephadex, se observó a partir del eluato 30 al 45 la aparición de un grupo de manchas con el mismo color y Rf (CE – 1), como se observa en la Figura 66.

Figura 65

TLC de eluatos 30 al 40 sin revelar.

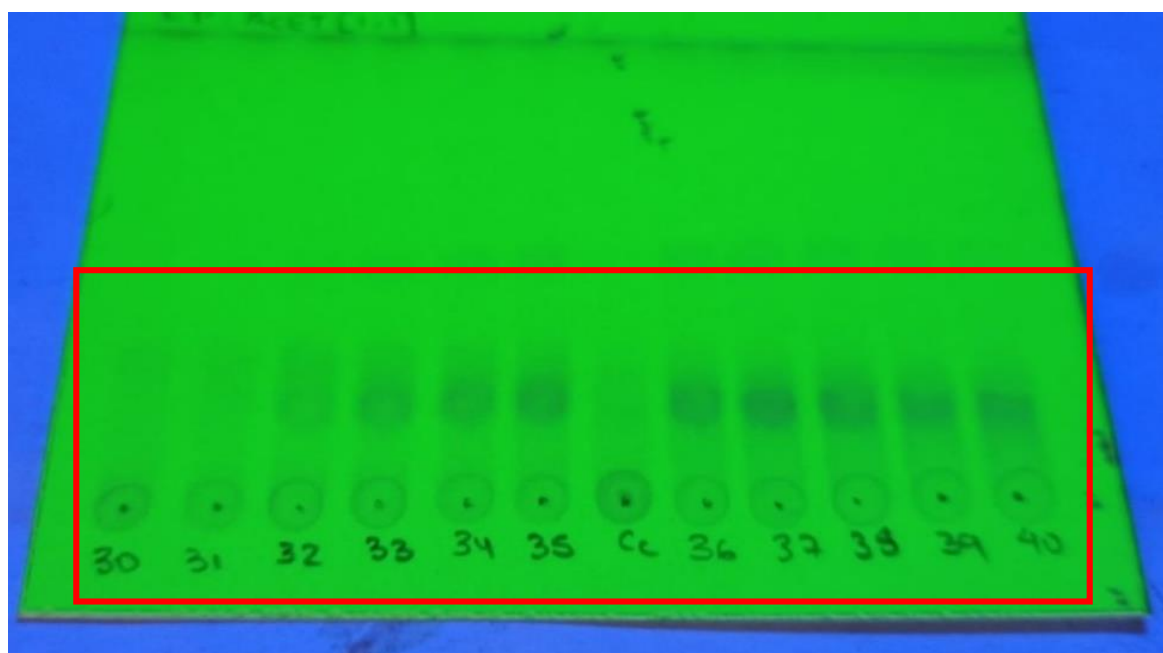


Figura 66

TLC de eluatos.30 al 40 en lámpara UV a 254 nm.

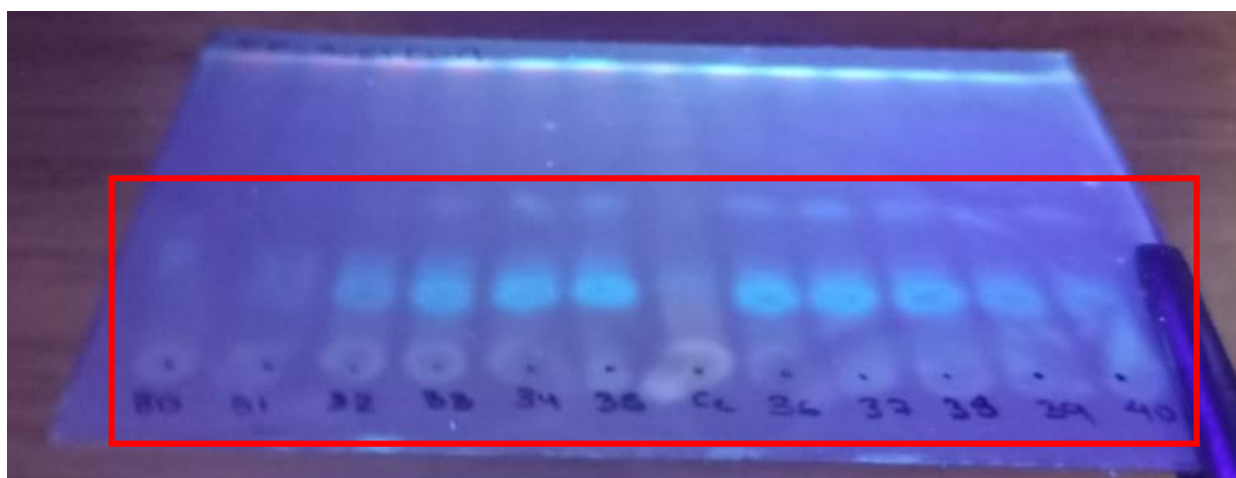
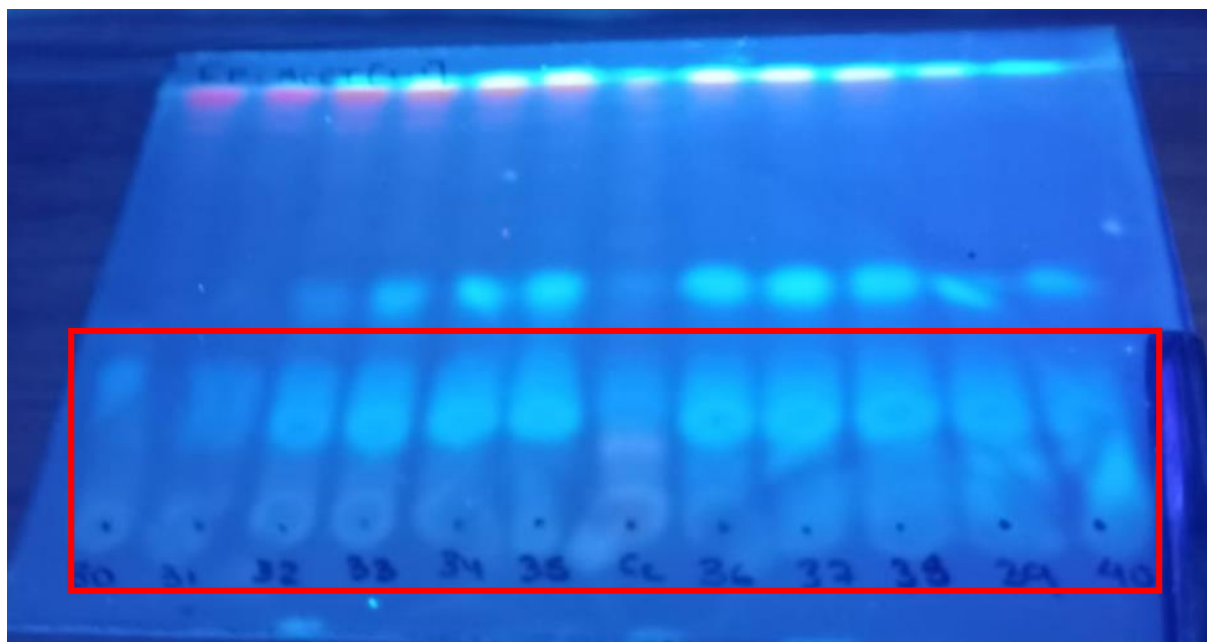


Figura 67

TLC de eluatos 30 al 40 en lámpara UV a 365 nm.

**Figura 68**

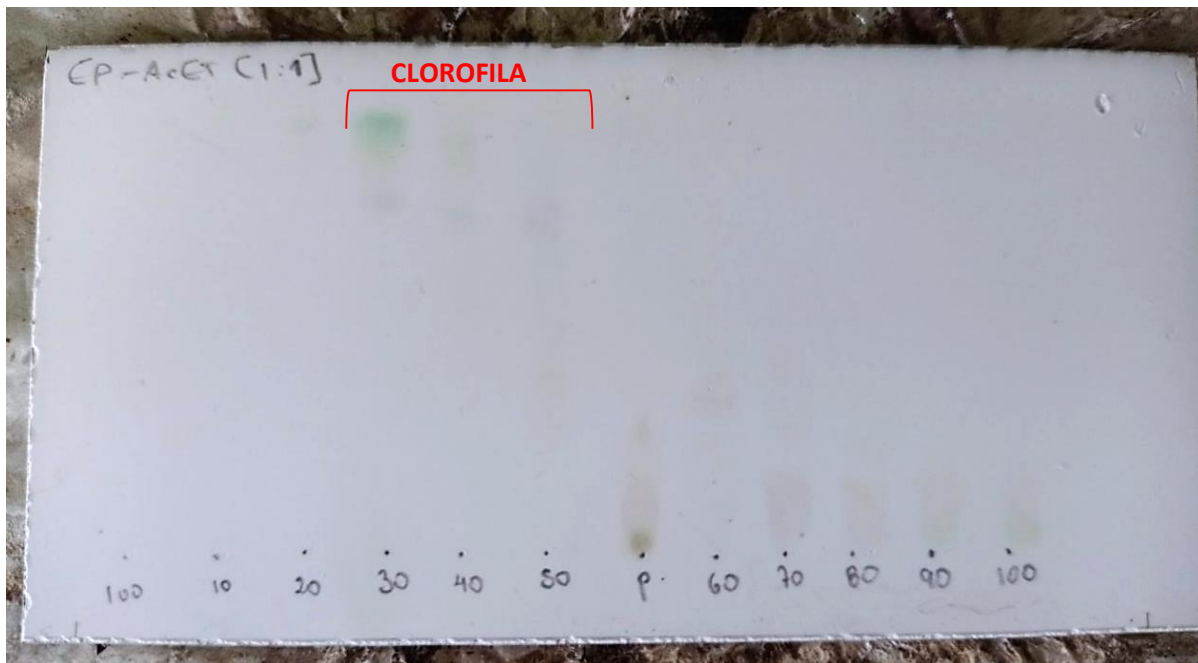
TLC de eluatos 40 al 50 en lámpara UV a 365 nm.



B. Cromatografía en columna al vacío de CE -1. La sub-fracción CE - 1, fue llevada a cromatografía en columna al vacío, para separar la clorofila presente que actúa como interferente en la mayor parte de fracción. En la Figura 70, se pueden ver ligeras manchas de coloración verde.

Figura 69

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol.

**Figura 70**

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 a lámpara UV a 254 nm

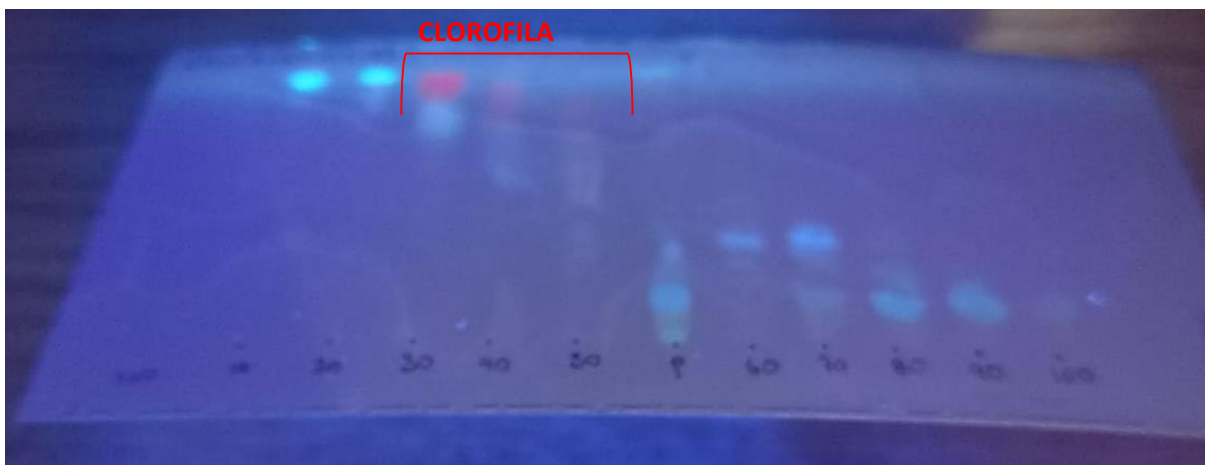
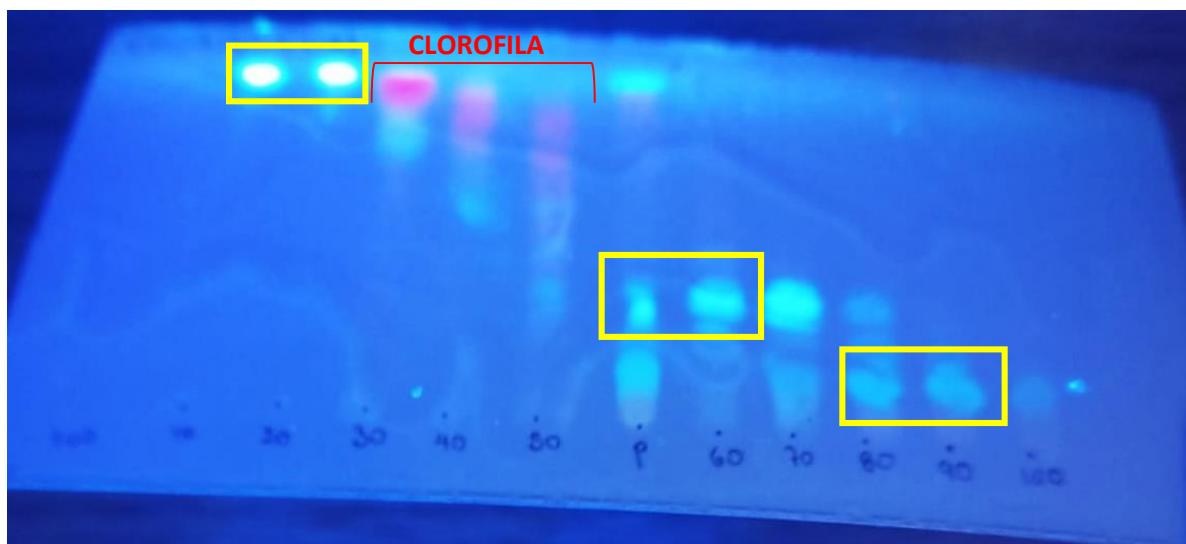


Figura 71

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 a lámpara UV a 365 nm.



Se reunieron los eluatos obtenidos en sub-fracciones por el Rf obtenido (Figuras 70 y 71). En el caso de CE – 1.1 se consideraron los eluatos de 10 y 20% [éter de petróleo: acetato de etilo], CE – 1.2, los eluatos de 60 y 70% [éter de petróleo: acetato de etilo], finalmente, los eluatos de CE – 1.3, 90 y 100% [éter de petróleo: acetato de etilo].

C. Análisis por RMN ^1H . Se llevaron las sub-fracciones obtenidas: CE – 1.1, CE – 1.2 y CE – 1.3 a análisis RMN ^1H .

Figura 72

Espectro RMN ^1H de la sub-fracción CE – 1.1

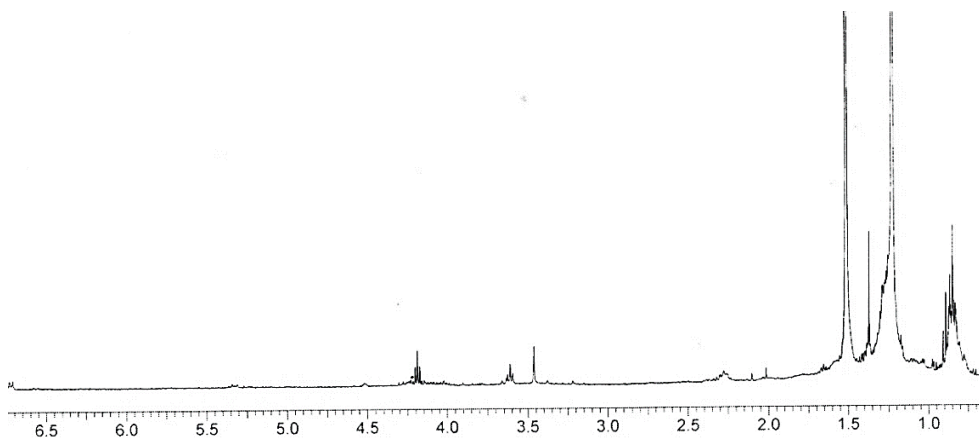
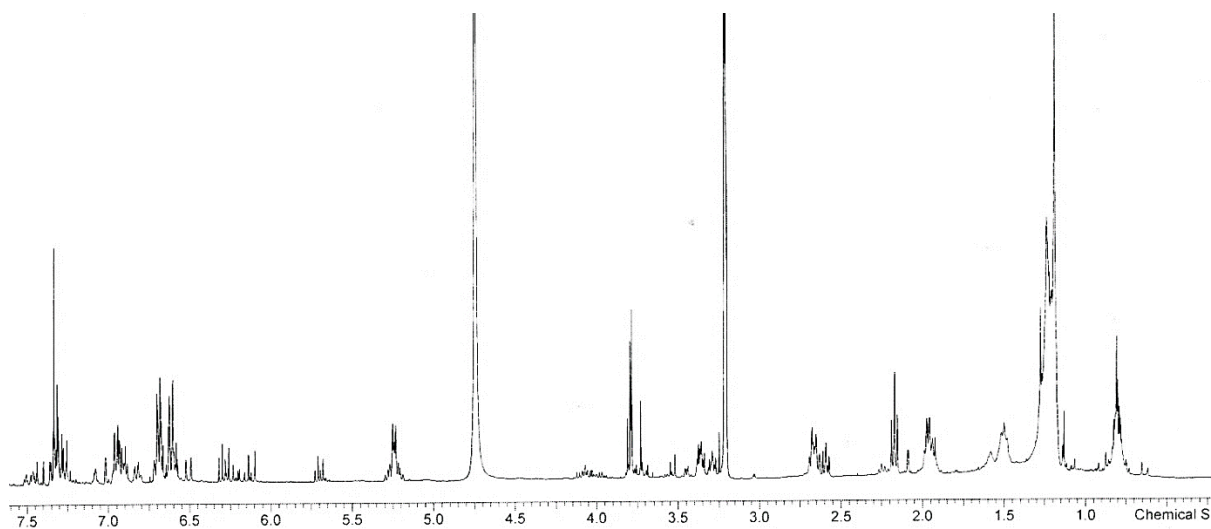
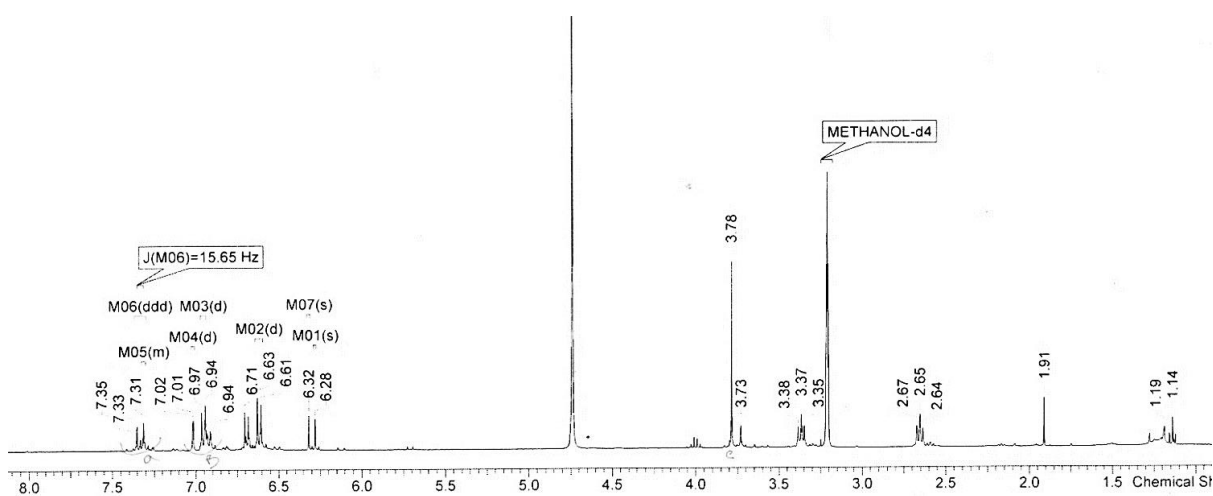


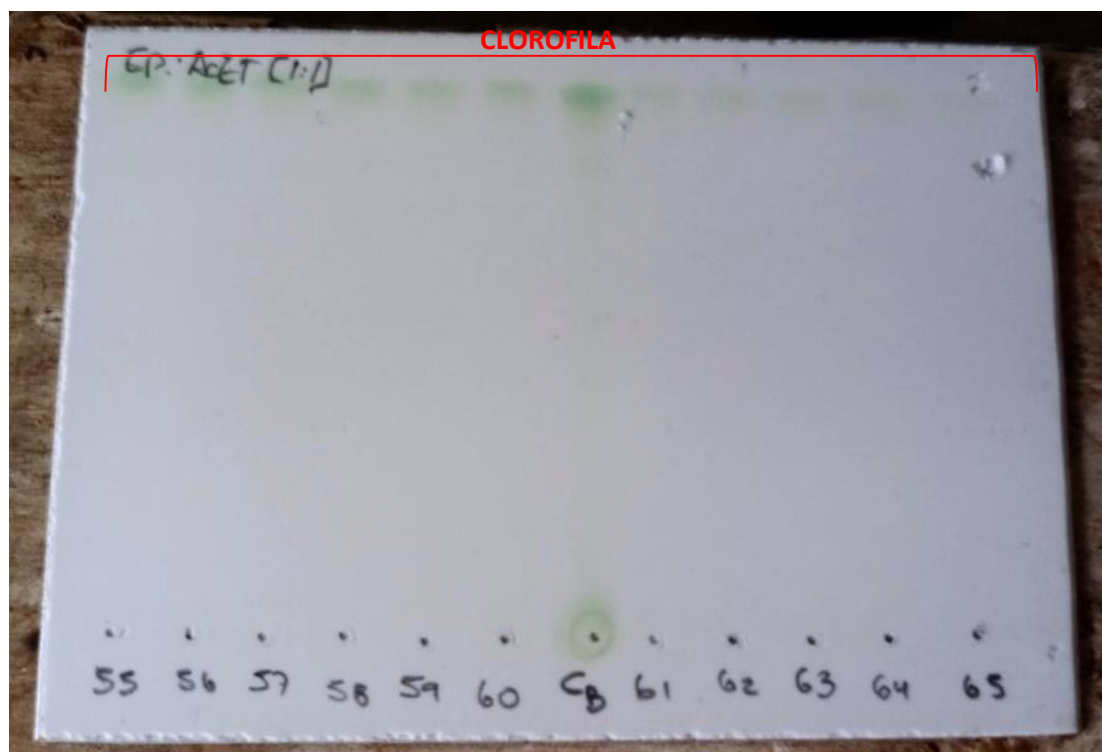
Figura 73*Espectro RMN ^1H de la sub-fracción CE – 1.2***Figura 74***Espectro RMN ^1H de la sub-fracción CE – 1.3*

4.4.3. Cromatografía del extracto EC de cáscaras de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

A. Cromatografía de exclusión molecular. Se obtuvieron los siguientes resultados para EC de cáscaras, se visualiza en la Figura 75, la aparición de un grupo de manchas del eluato 30 al 67 (CE – 2) (Figuras 76 al 78).

Figura 75

TLC de eluatos 55 al 65 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol.

**Figura 76**

TLC de eluatos 55 al 65 en lámpara UV a 254 nm.

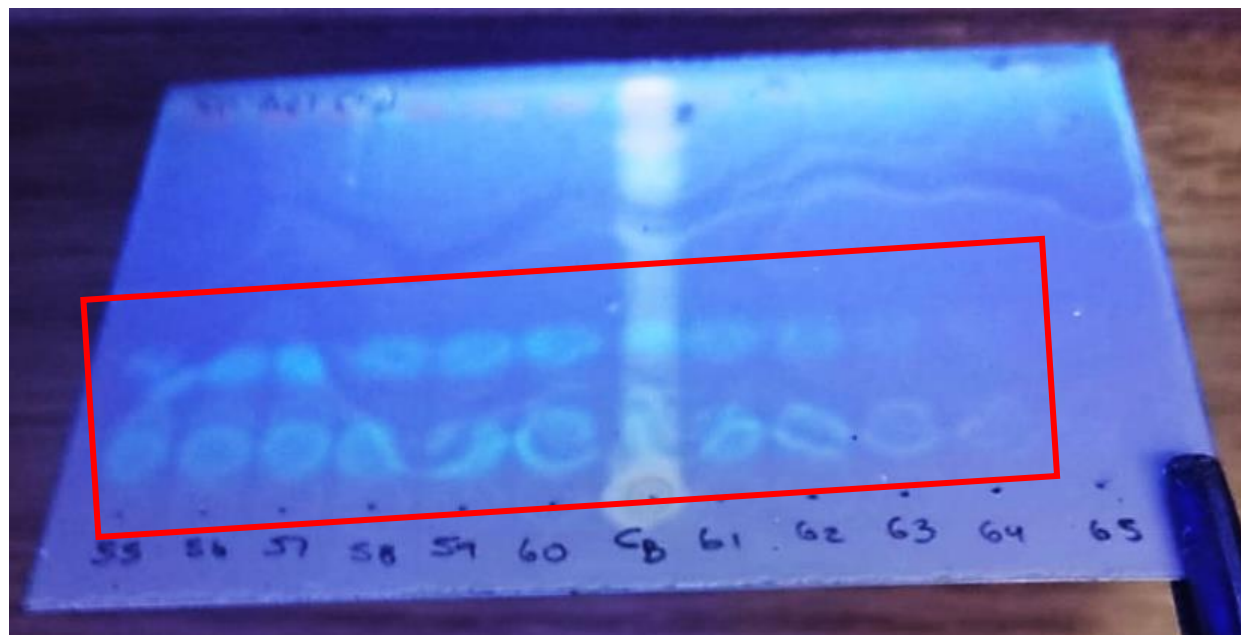
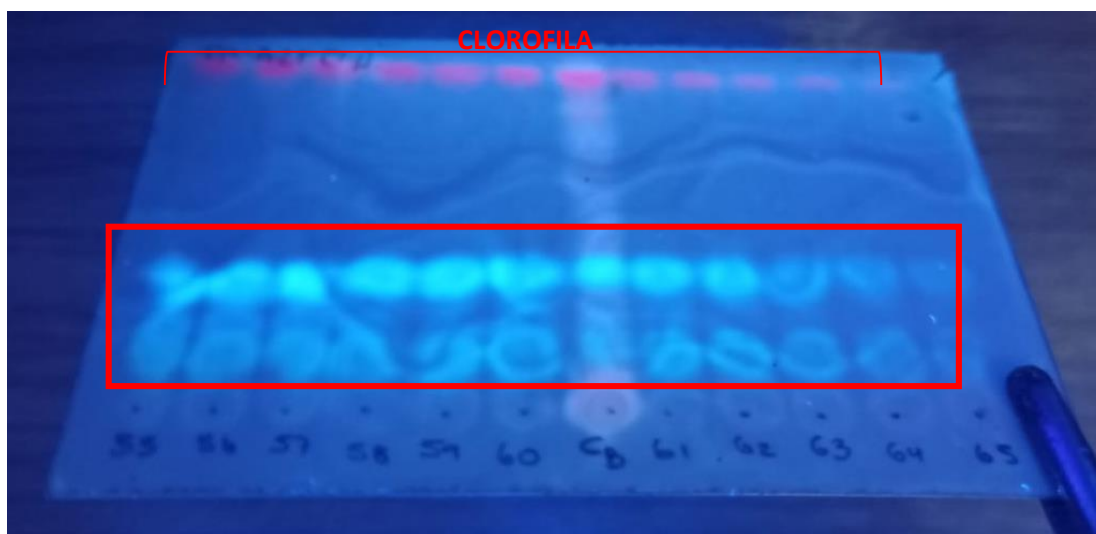
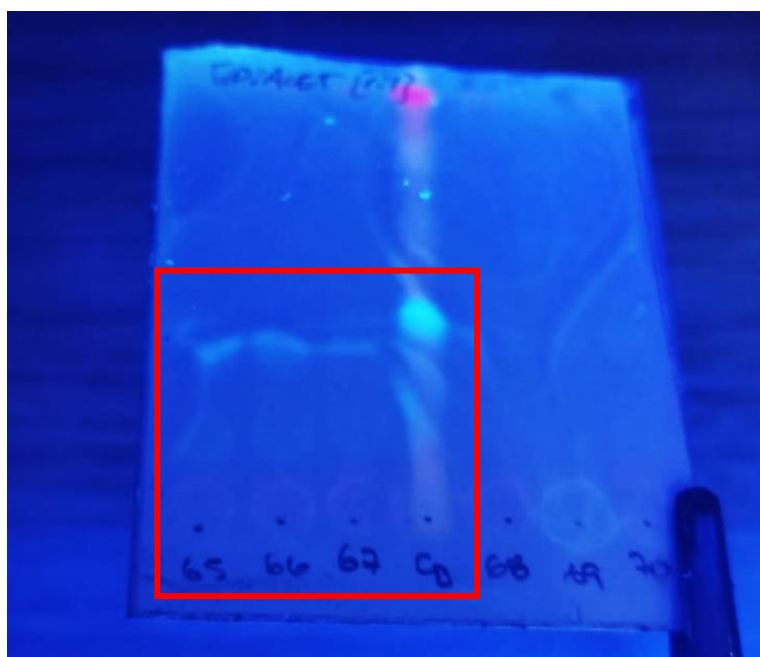


Figura 77

TLC de eluatos 55 al 65 en lámpara UV a 365 nm.

**Figura 78**

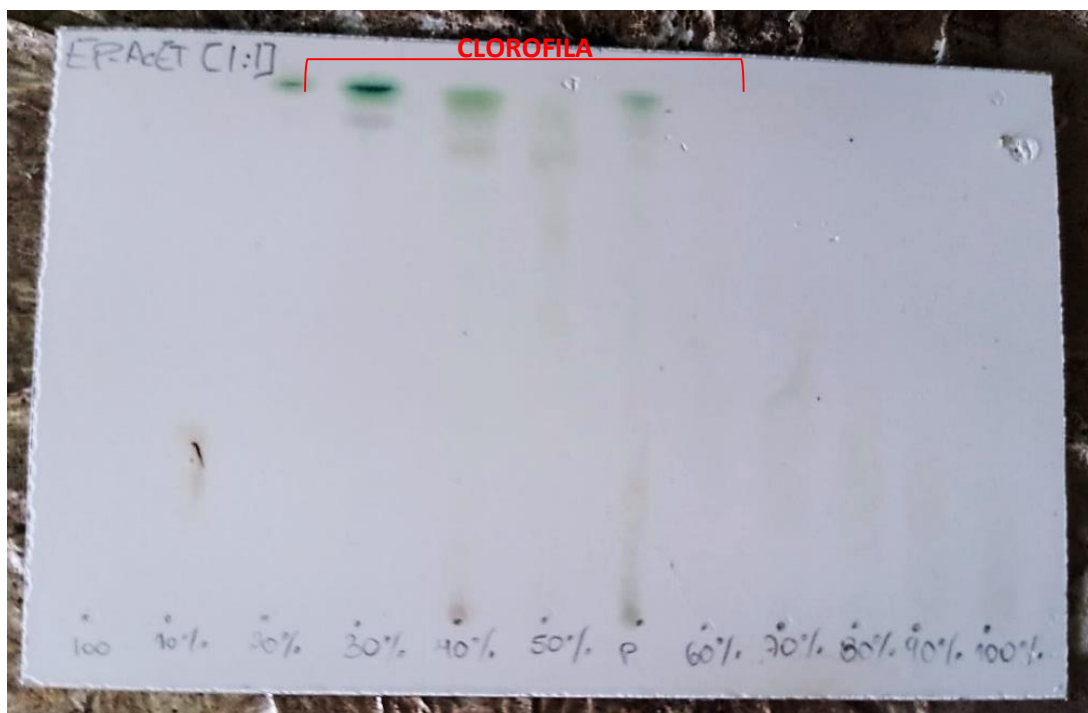
TLC de eluatos 65 al 70 en lámpara UV a 365 nm.



B. Cromatografía de columna al vacío de CE – 2. CE – 2 fue llevado a separación por cromatografía de vacío utilizando los mismo parámetros y fase móvil. La presencia de clorofila fue mucho más destacada en esta fracción a diferencia de CE – 1 (Figuras 79 y 80).

Figura 79

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 con revelador H_2SO_4 al 5% - metanol

**Figura 80**

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 en lámpara UV a 254 nm.

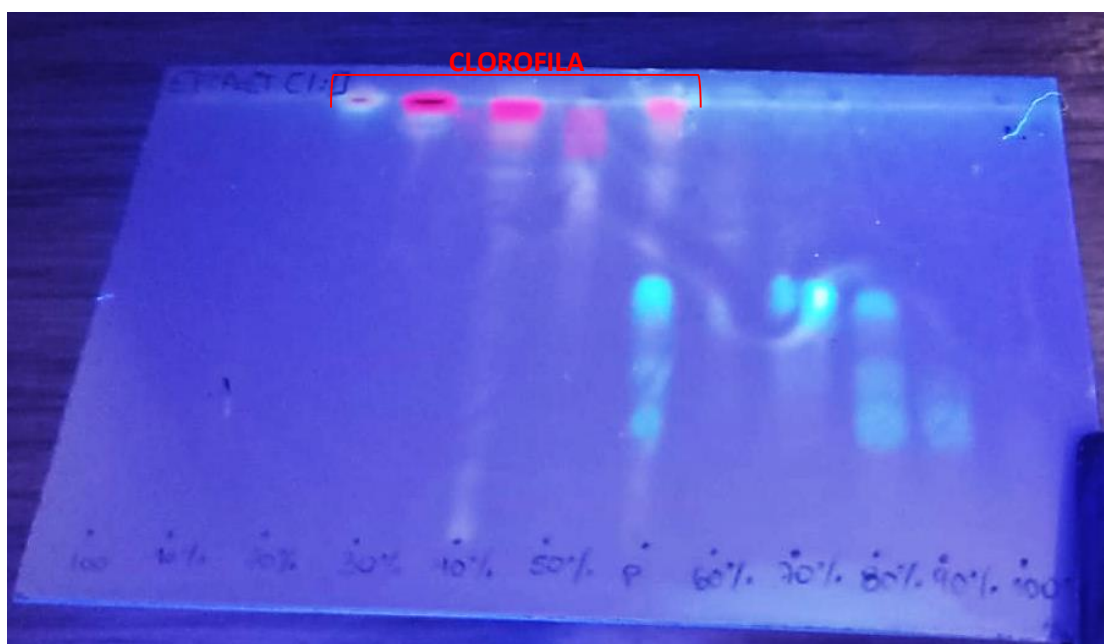
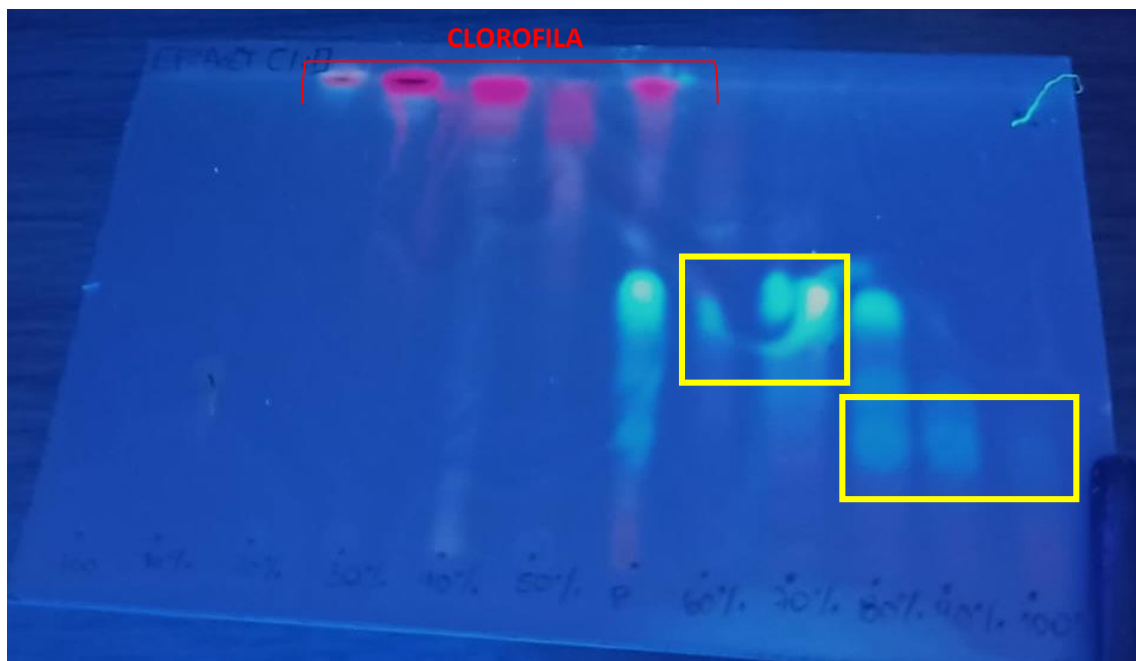


Figura 81

TLC de 100% éter de petróleo a 100% acetato de etilo aumentado de 10 en 10 en lámpara UV a 365 nm.



Según los valores de Rf, los eluatos se reunieron en CE – 2.1 (60 y 70% de [éter de petróleo: acetato de etilo]) y CE – 2.2 (80 y 100% de [éter de petróleo: acetato de etilo]).

C. Análisis por RMN ^1H . Se llevaron las sub-fracciones obtenidas: CE – 2.1 y CE – 2.2 al análisis RMN ^1H .

Figura 82

Espectro RMN ^1H de la sub-fracción CE – 2.1

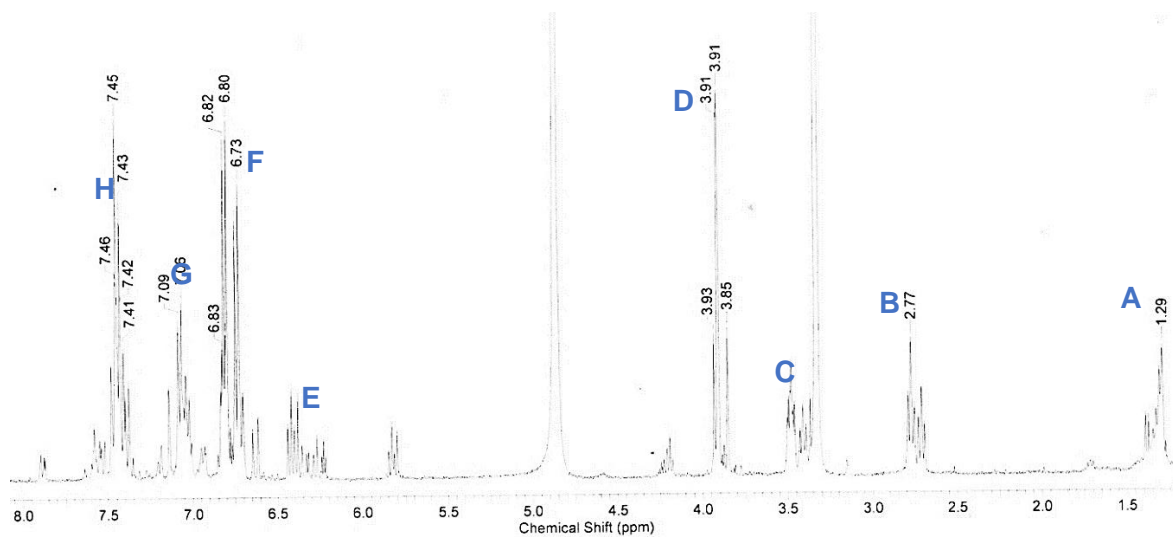


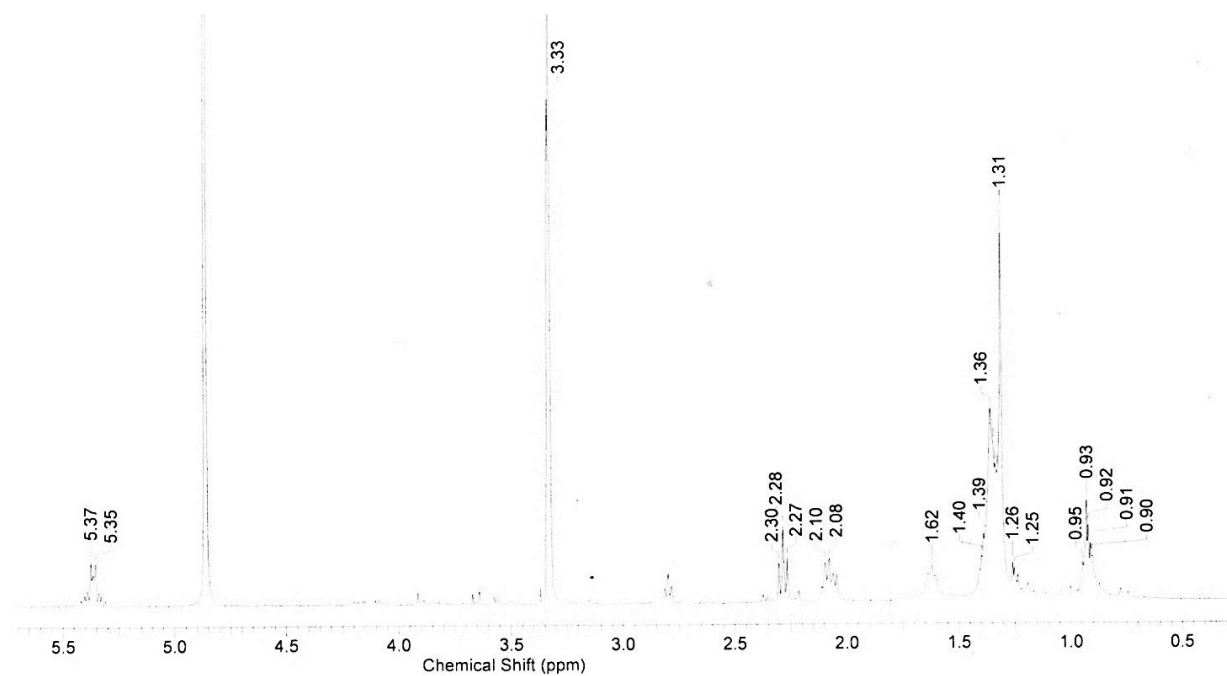
Tabla 28

Tabla de señales en los espectros de RMN ^1H de la sub-fracción CE – 2.1

Señal	d (ppm)	Grupo funcional
A	1.27 – 1.29	Hidrógenos metilénicos de ácidos grasos
B	2.60 – 2.77	Hidrógenos alílicos
C	3.30 – 3.35	Hidrógenos alílicos
D	3.85 – 3.93	Hidrógenos alílicos
E	6.25 – 6.45	Hidrógenos aromáticos
F	6.73 – 6.83	Hidrógenos aromáticos
G	7.06 – 7.12	Hidrógenos aromáticos
H	7.41 – 7.50	Hidrógenos aromáticos

Figura 83

Espectro RMN ^1H de la sub-fracción CE – 2.2

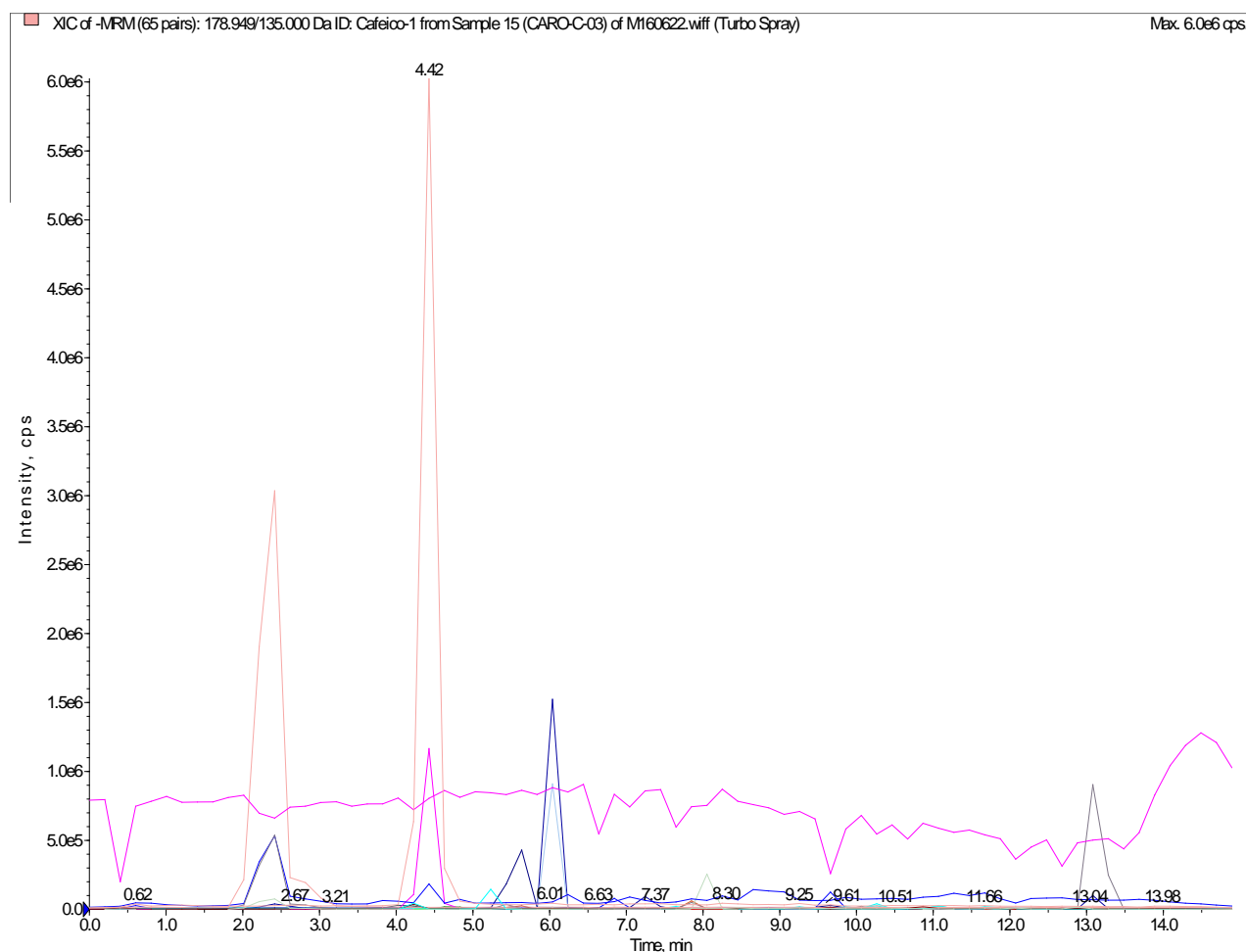


4.5. Análisis de EA de cáscara verde en UHPLC-MS-MS

El análisis cromatográfico del extracto de acetato de etilo (EA) a partir de cáscaras verde del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, codificado como CARO-C-03, se realizó por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (UHPLC-Triple Quad-MS-MS) siguiendo los parámetros en el capítulo anterior, este análisis se llevó a cabo en la Unidad Central de Instrumentación de la Facultad de Química y de Farmacia de la Pontificia Universidad Católica de Chile. La identificación de los compuestos químicos se realizó a partir de una comparación con un total de 31 estándares, la Figura 84 corresponde a la lectura de EA de cáscara verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

Figura 84

Cromatograma obtenido del EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.



Se obtuvieron resultados para 7 estándares utilizados en el análisis UHPLC.

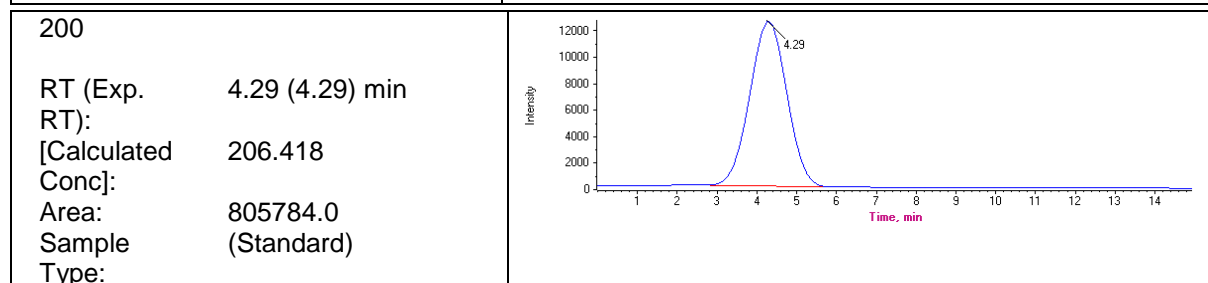
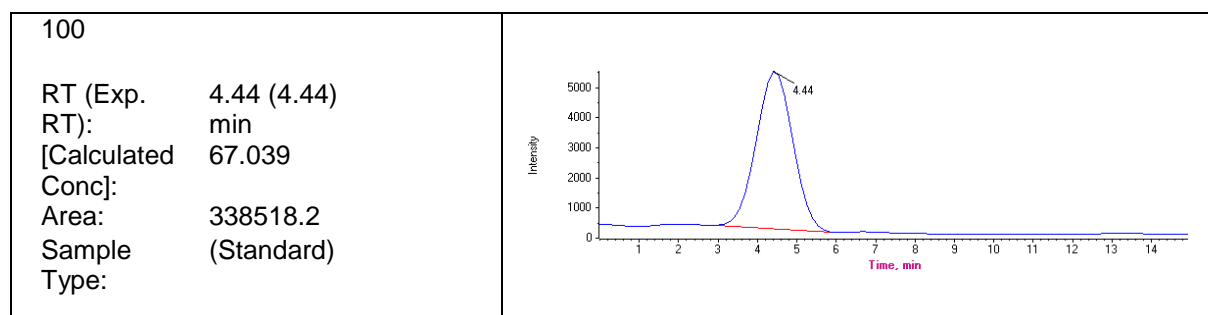
Figura 85

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido siríngico -1.

Analyte: Siringico-1 (197.0 / 181.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	3.385e+05	4.44	100.00	67.039
200	Standard	8.058e+05	4.29	200.00	206.418
400	Standard	1.510e+06	4.29	400.00	416.487
600	Standard	2.167e+06	4.28	600.00	612.346
800	Standard	2.558e+06	4.29	800.00	729.136
1000	Standard	3.750e+06	4.28	1000.00	1084.489
2500	Standard	8.442e+06	4.29	2500.00	2484.085
CARO-C-03	Unknown	5.112e+05	4.66	N/A	118.534



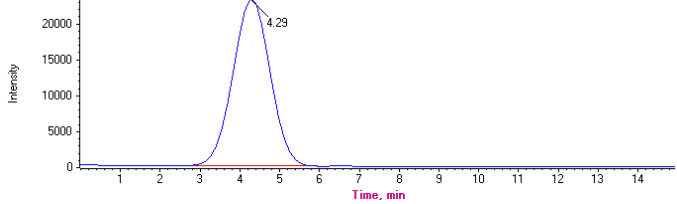
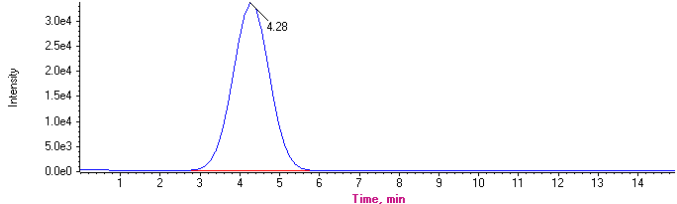
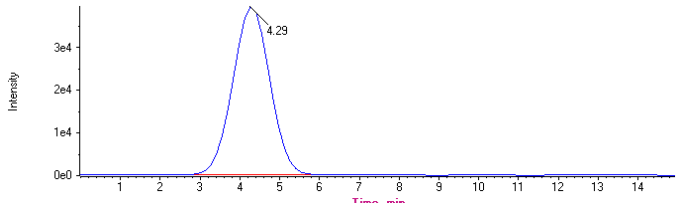
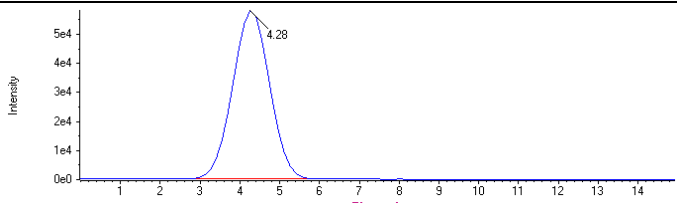
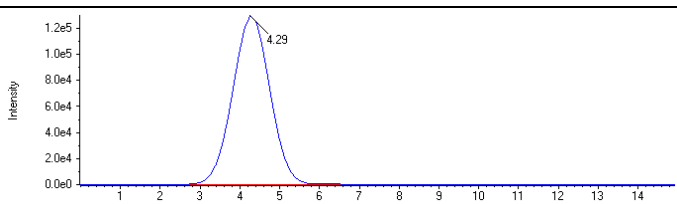
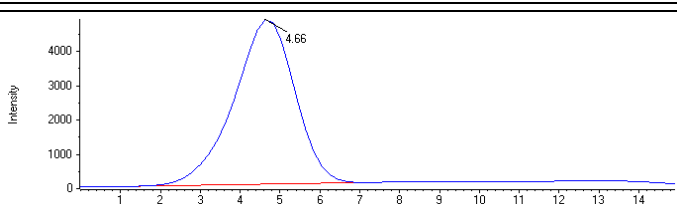
<p>400</p> <p>RT (Exp. RT): 4.29 (4.29) min [Calculated Conc]: 416.487 Area: 1510042.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 4.28 (4.28) min [Calculated Conc]: 612.346 Area: 2166657.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 4.29 (4.29) min [Calculated Conc]: 729.136 Area: 2558195.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 4.28 (4.28) min [Calculated Conc]: 1084.489 Area: 3749517.6 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 4.29 (4.29) min [Calculated Conc]: 2484.085 Area: 8441657.0 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 4.66 (4.66) min [Calculated Conc]: 118.534 Area: 511156.1 Sample (Unknown) Type:</p>	

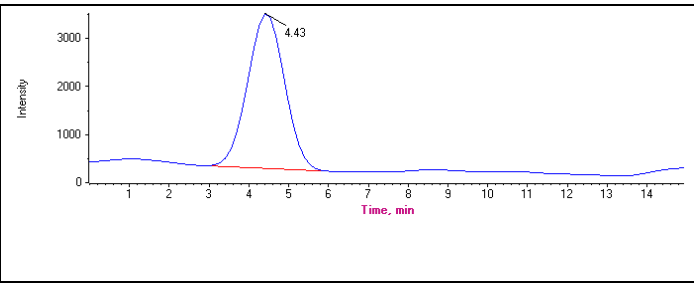
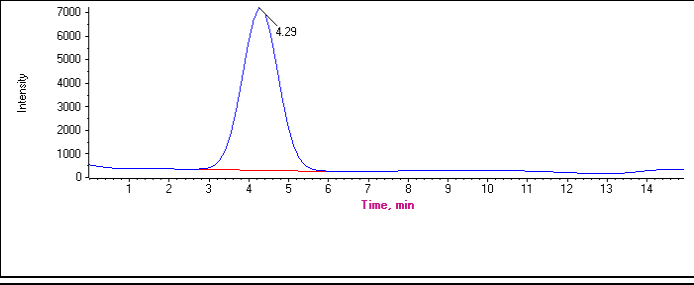
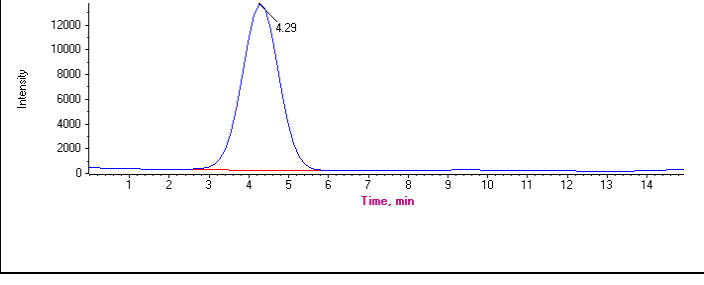
Figura 86

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido siríngico -2.

Analyte: Siringico-2 (197.0 / 122.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	2.085e+05	4.43	100.00	74.926
200	Standard	4.497e+05	4.29	200.00	192.712
400	Standard	8.823e+05	4.29	400.00	403.975
600	Standard	1.272e+06	4.29	600.00	594.450
800	Standard	1.656e+06	4.28	800.00	781.839
1000	Standard	2.253e+06	4.28	1000.00	1073.340
2500	Standard	5.131e+06	4.29	2500.00	2478.757
CARO-C-03	Unknown	3.295e+05	4.72	N/A	134.053

100 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	4.43 (4.43) min 74.926 208466.2 (Standard)	
200 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	4.29 (4.29) min 192.712 449671.9 (Standard)	
400 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	4.29 (4.29) min 403.975 882304.8 (Standard)	

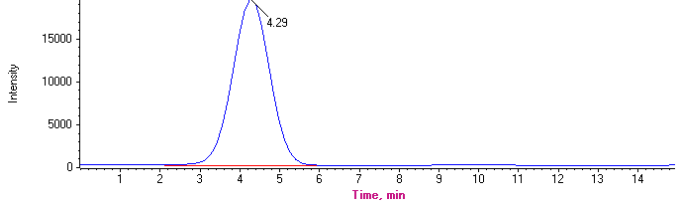
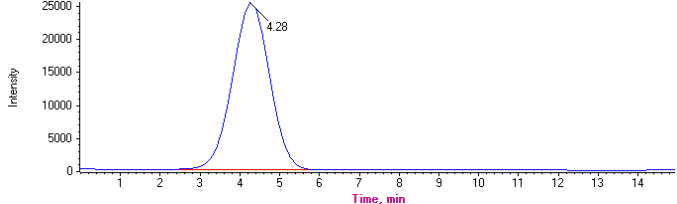
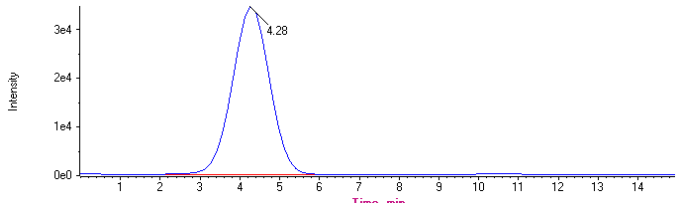
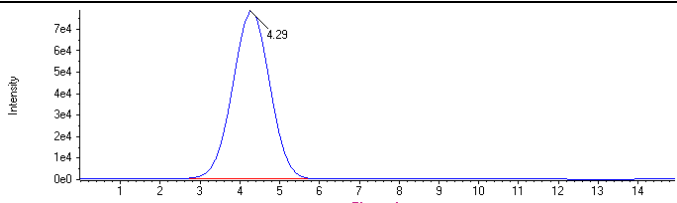
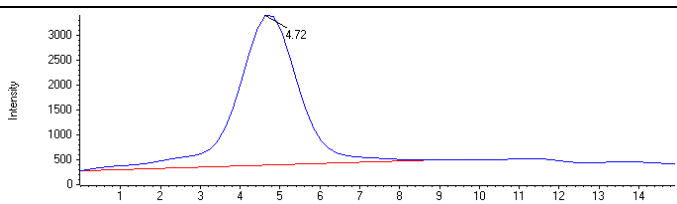
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 4.29 (4.29) min [Calculated Conc]: 594.450 Area: 1272368.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 4.28 (4.28) min [Calculated Conc]: 781.839 Area: 1656110.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 4.28 (4.28) min [Calculated Conc]: 1073.340 Area: 2253056.6 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 4.29 (4.29) min [Calculated Conc]: 2478.757 Area: 5131124.6 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 4.72 (4.72) min [Calculated Conc]: 134.053 Area: 329548.3 Sample (Unknown) Type:</p>	

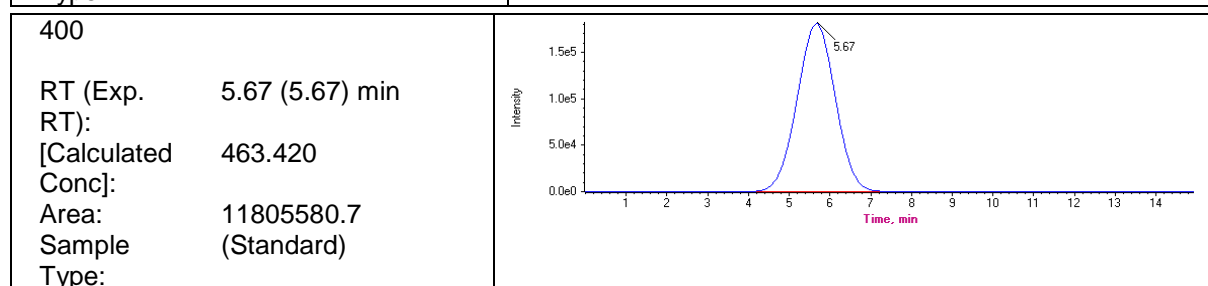
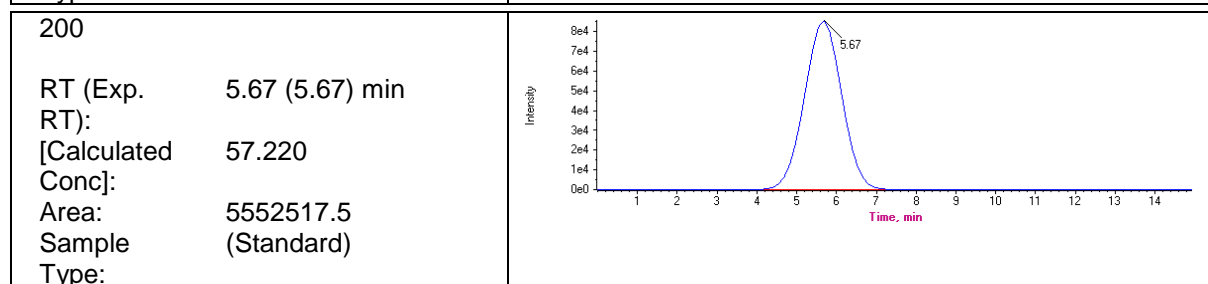
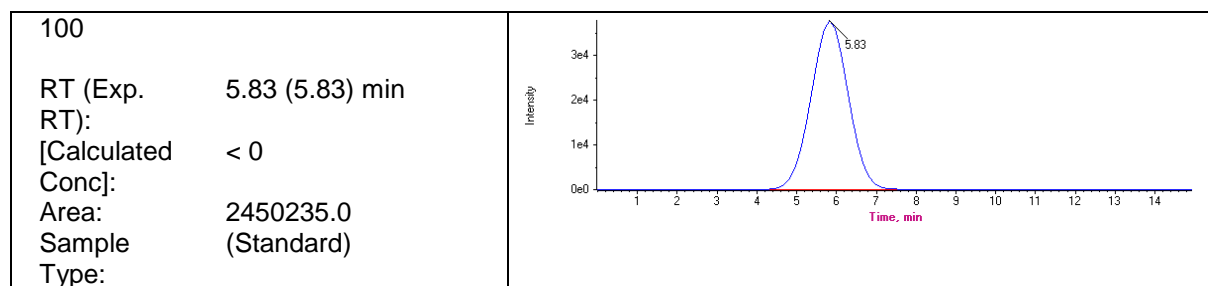
Figura 87

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido ferúlico -1.

Analyte: Ferulico-1 (192.9 / 134.0)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. ()	[Calculated Conc]. ()
100	Standard	2.450e+06	5.83	100.00	< 0
200	Standard	5.553e+06	5.67	200.00	57.220
400	Standard	1.181e+07	5.67	400.00	463.420
600	Standard	1.541e+07	5.66	600.00	697.253
800	Standard	1.919e+07	5.65	800.00	942.880
1000	Standard	2.370e+07	5.65	1000.00	1235.911
2500	Standard	4.081e+07	5.63	2500.00	2347.621
CARO-C-03	Unknown	2.008e+07	6.06	N/A	1001.051



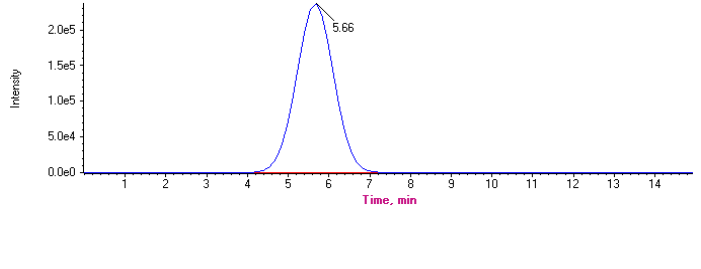
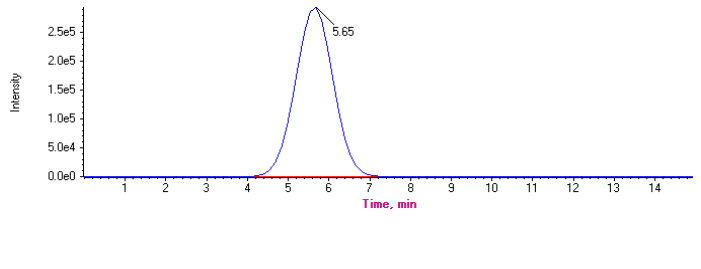
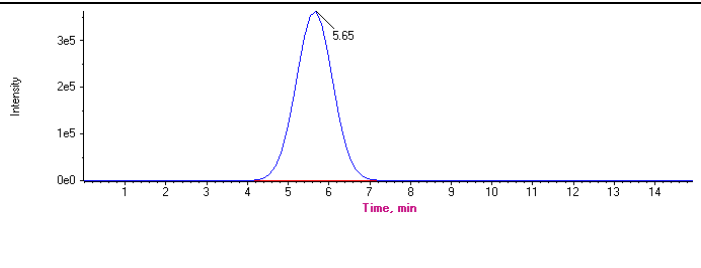
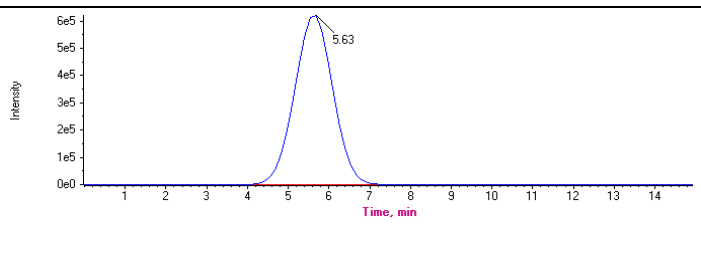
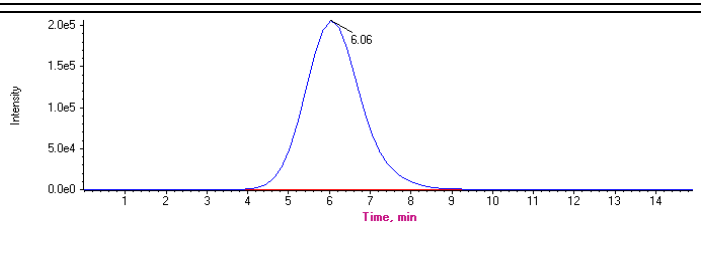
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 5.66 (5.66) min [Calculated Conc]: 697.253 Area: 15405224.7 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 5.65 (5.65) min [Calculated Conc]: 942.880 Area: 19186430.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 5.65 (5.65) min [Calculated Conc]: 1235.911 Area: 23697364.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 5.63 (5.63) min [Calculated Conc]: 2347.621 Area: 40811107.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 6.06 (6.06) min [Calculated Conc]: 1001.051 Area: 20081917.8 Sample (Unknown) Type:</p>	

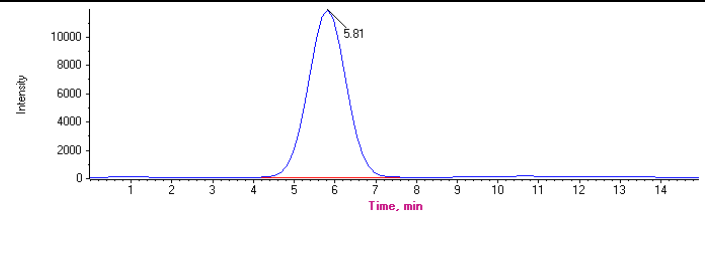
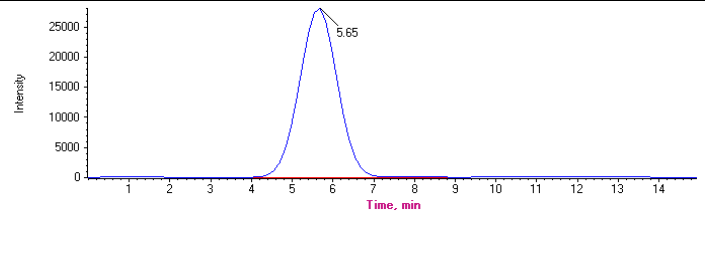
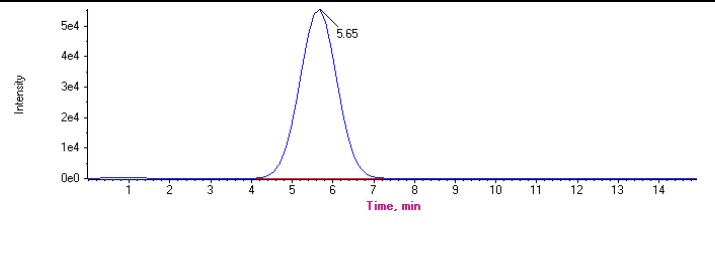
Figura 88

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido ferúlico -2.

Analyte: Ferulico-2 (192.9 / 177.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	7.710e+05	5.81	100.00	24.205
200	Standard	1.832e+06	5.65	200.00	165.300
400	Standard	3.616e+06	5.65	400.00	402.427
600	Standard	4.843e+06	5.64	600.00	565.608
800	Standard	7.459e+06	5.62	800.00	913.282
1000	Standard	8.760e+06	5.62	1000.00	1086.257
2500	Standard	1.896e+07	5.60	2500.00	2442.920
CARO-C-03	Unknown	1.120e+07	6.04	N/A	1410.687

100 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type: 5.81 (5.81) min 24.205 770994.5 (Standard)	
200 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type: 5.65 (5.65) min 165.300 1832296.7 (Standard)	
400 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type: 5.65 (5.65) min 402.427 3615933.5 (Standard)	

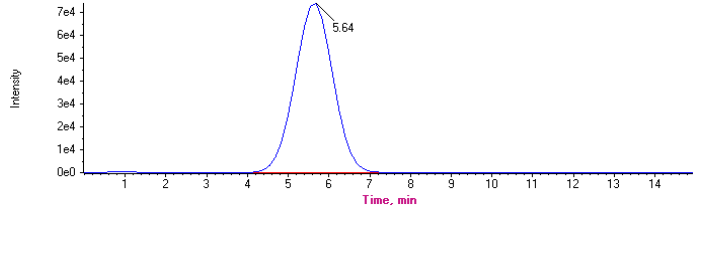
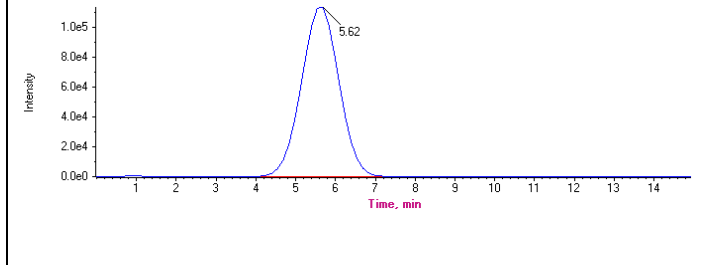
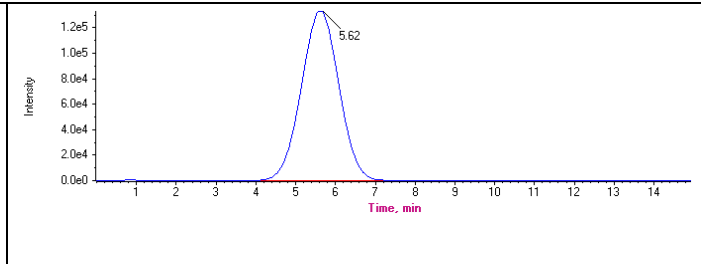
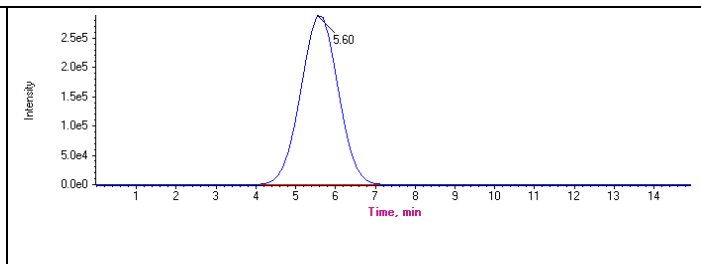
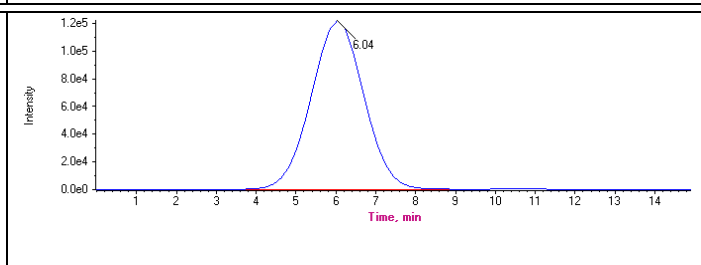
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 5.64 (5.64) min [Calculated Conc]: 565.608 Area: 4843360.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 5.62 (5.62) min [Calculated Conc]: 913.282 Area: 7458515.7 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 5.62 (5.62) min [Calculated Conc]: 1086.257 Area: 8759611.9 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 5.60 (5.60) min [Calculated Conc]: 2442.920 Area: 18964246.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 6.04 (6.04) min [Calculated Conc]: 1410.687 Area: 11199928.5 Sample (Unknown) Type:</p>	

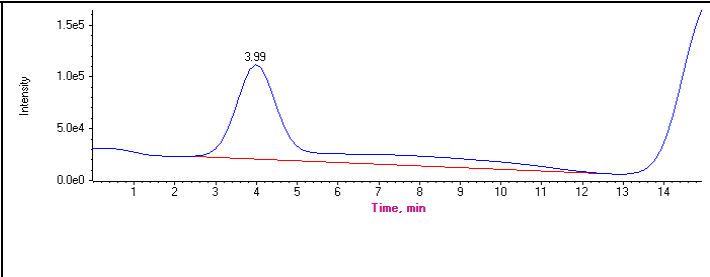
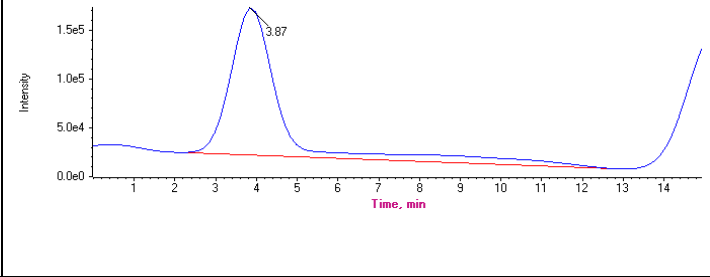
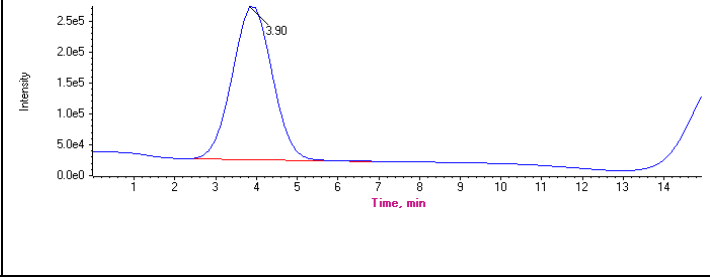
Figura 89

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido cafeíco-1.

Analyte: Cafeico-1 (178.9 / 135.0)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLTLLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	9.505e+06	3.99	100.00	114.159
200	Standard	1.289e+07	3.87	200.00	189.041
400	Standard	1.701e+07	3.90	400.00	280.183
600	Standard	3.071e+07	3.85	600.00	583.589
800	Standard	4.283e+07	3.84	800.00	851.849
1000	Standard	5.512e+07	3.84	1000.00	1123.919
2500	Standard	1.153e+08	3.84	2500.00	2457.261
CARO-C-03	Unknown	8.331e+07	4.42	N/A	1747.943

100 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.99 (3.99) min 114.159 9505423.6 (Standard)	
200 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.87 (3.87) min 189.041 12887975.0 (Standard)	
400 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.90 (3.90) min 280.183 17005068.8 (Standard)	

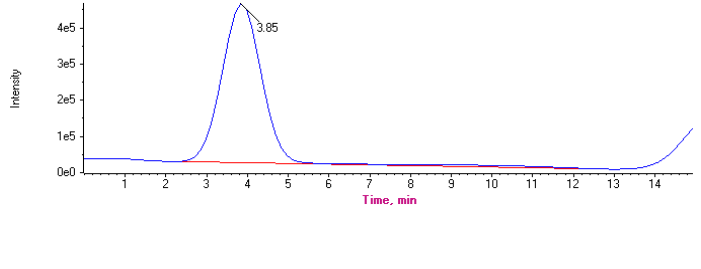
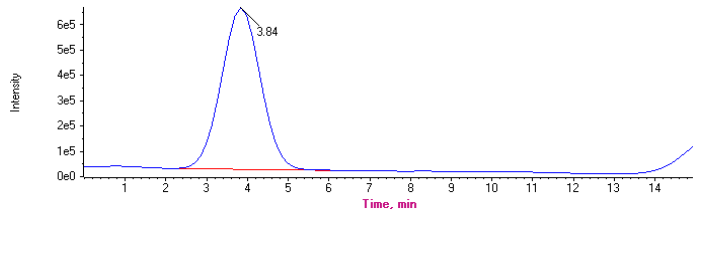
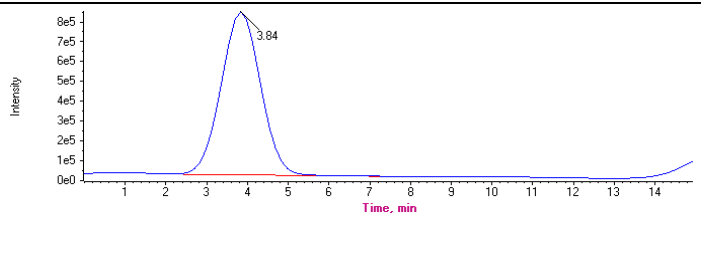
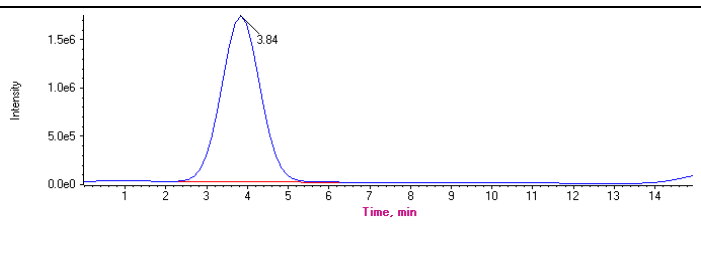
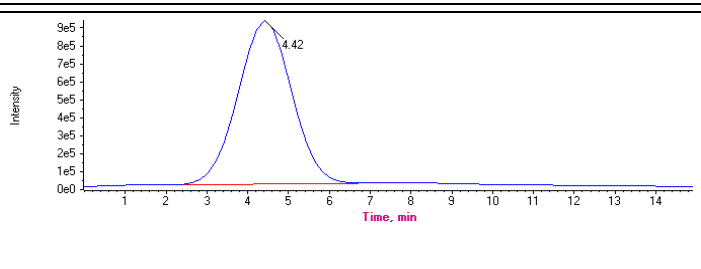
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 3.85 (3.85) min [Calculated Conc]: 583.589 Area: 30710577.2 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 3.84 (3.84) min [Calculated Conc]: 851.849 Area: 42828458.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 3.84 (3.84) min [Calculated Conc]: 1123.919 Area: 55118451.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 3.84 (3.84) min [Calculated Conc]: 2457.261 Area: 115348373.2 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 4.42 (4.42) min [Calculated Conc]: 1747.943 Area: 83306987.0 Sample (Unknown) Type:</p>	

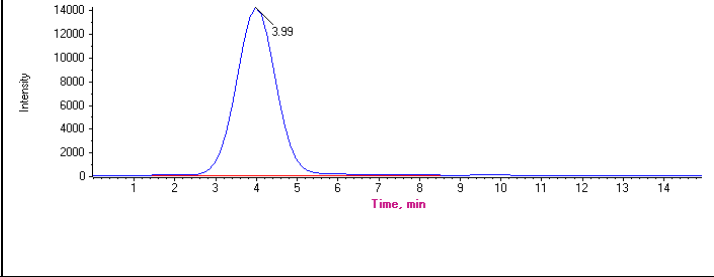
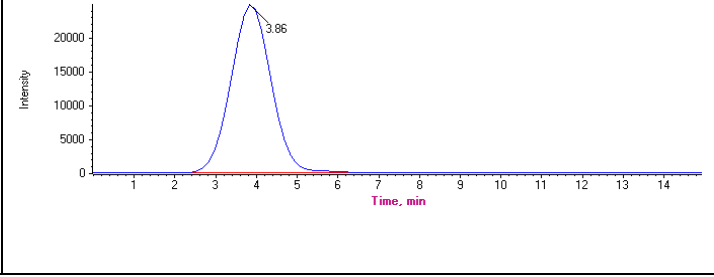
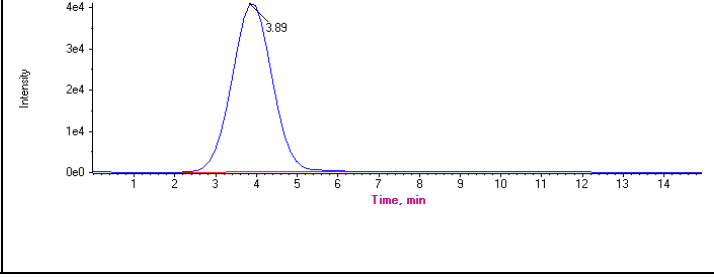
Figura 90

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido cafeico -2.

Analyte: Cafeico-2 (178.9 / 133.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLTLLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. ()	[Calculated Conc]. ()
100	Standard	9.706e+05	3.99	100.00	121.762
200	Standard	1.700e+06	3.86	200.00	203.667
400	Standard	2.835e+06	3.89	400.00	331.218
600	Standard	4.884e+06	3.85	600.00	561.532
800	Standard	7.313e+06	3.84	800.00	834.380
1000	Standard	9.371e+06	3.84	1000.00	1065.615
2500	Standard	2.197e+07	3.83	2500.00	2481.826
CARO-C-03	Unknown	1.598e+07	4.42	N/A	1808.711

100 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.99 (3.99) min 121.762 970616.0 (Standard)	
200 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.86 (3.86) min 203.667 1699529.2 (Standard)	
400 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	3.89 (3.89) min 331.218 2834679.7 (Standard)	

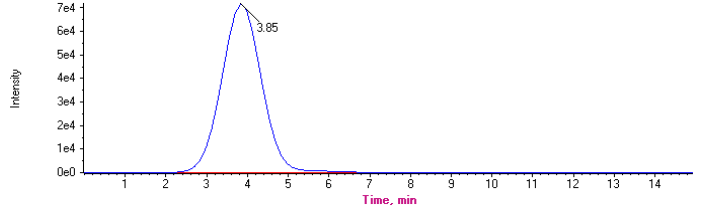
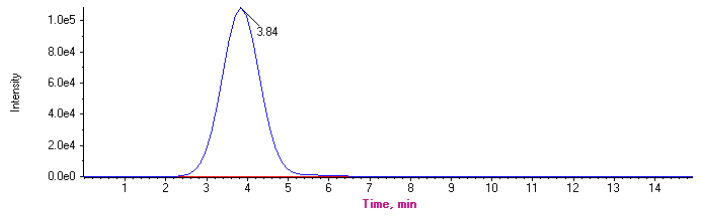
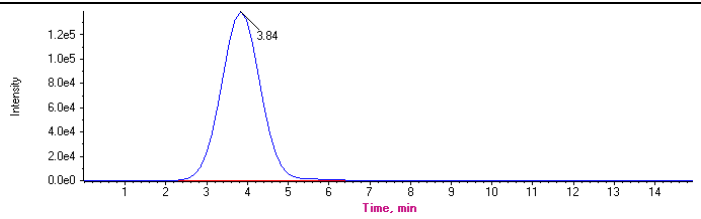
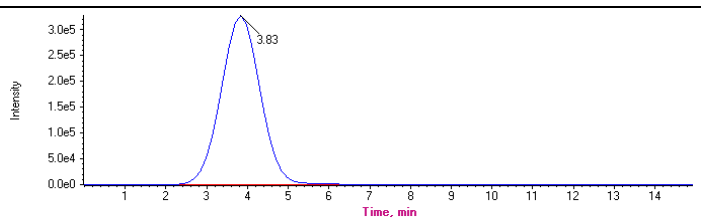
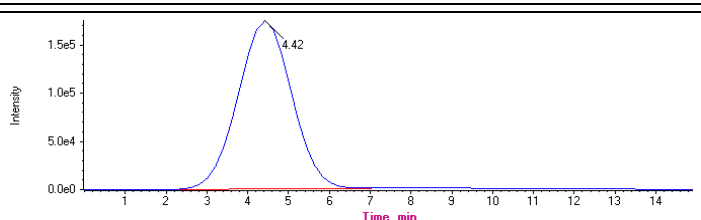
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 3.85 (3.85) min [Calculated Conc]: 561.532 Area: 4884380.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 3.84 (3.84) min [Calculated Conc]: 834.380 Area: 7312606.8 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 3.84 (3.84) min [Calculated Conc]: 1065.615 Area: 9370501.7 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 3.83 (3.83) min [Calculated Conc]: 2481.826 Area: 21974178.0 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 4.42 (4.42) min [Calculated Conc]: 1808.711 Area: 15983736.1 Sample (Unknown) Type:</p>	

Figura 91

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido cumárico -1.

Analyte: Cumarico-1 (162.9 / 119.0)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	6.567e+06	5.16	100.00	< 0
200	Standard	1.275e+07	5.02	200.00	53.968
400	Standard	2.582e+07	5.02	400.00	365.920
600	Standard	4.022e+07	5.01	600.00	709.441
800	Standard	5.304e+07	5.01	800.00	1015.308
1000	Standard	6.072e+07	5.00	1000.00	1198.563
2500	Standard	1.090e+08	5.01	2500.00	2350.285
CARO-C-03	Unknown	8.166e+06	5.59	N/A	< 0

100	RT (Exp. RT): 5.16 (5.16) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 6567268.8 Sample Type: (Standard)	
200	RT (Exp. RT): 5.02 (5.02) min [Calculated Conc]: 53.968 Area: 12747440.7 Sample Type: (Standard)	
400	RT (Exp. RT): 5.02 (5.02) min [Calculated Conc]: 365.920 Area: 25822281.7 Sample Type: (Standard)	

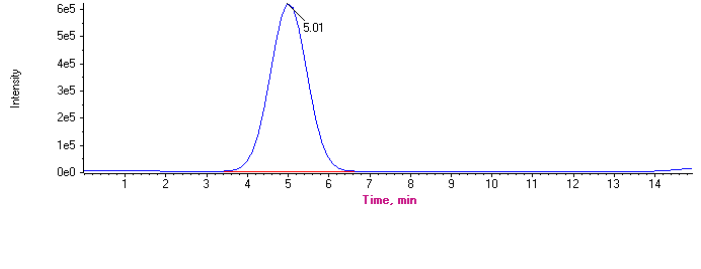
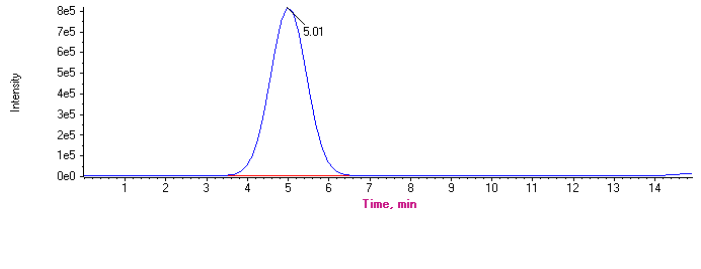
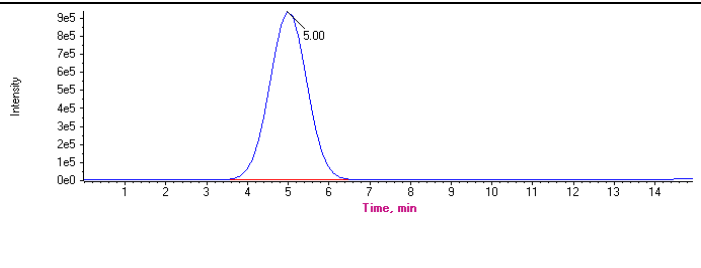
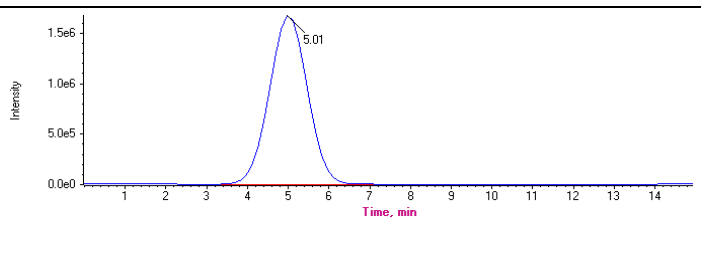
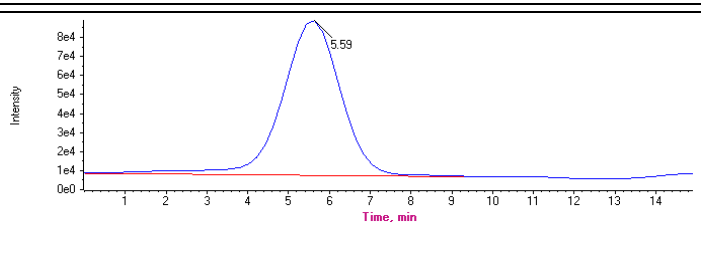
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 5.01 (5.01) min [Calculated Conc]: 709.441 Area: 40220267.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 5.01 (5.01) min [Calculated Conc]: 1015.308 Area: 53040108.7 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 5.00 (5.00) min [Calculated Conc]: 1198.563 Area: 60720840.3 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 5.01 (5.01) min [Calculated Conc]: 2350.285 Area: 108993000.6 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 5.59 (5.59) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 8166282.6 Sample (Unknown) Type:</p>	

Figura 92

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido cumárico -2.

Analyte: Cumarico-2 (162.9 / 92.8)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	4.025e+05	5.16	100.00	83.972
200	Standard	8.278e+05	5.02	200.00	183.234
400	Standard	1.703e+06	5.02	400.00	387.627
600	Standard	2.697e+06	5.01	600.00	619.581
800	Standard	3.560e+06	5.00	800.00	821.039
1000	Standard	4.413e+06	5.00	1000.00	1020.028
2500	Standard	1.069e+07	4.99	2500.00	2484.519
CARO-C-03	Unknown	4.803e+05	5.57	N/A	102.128

100						
RT (Exp. RT):	5.16 (5.16) min					
[Calculated Conc]:	83.972					
Area:	402530.7					
Sample Type:	(Standard)					
200						
RT (Exp. RT):	5.02 (5.02) min					
[Calculated Conc]:	183.234					
Area:	827769.4					
Sample Type:	(Standard)					
400						
RT (Exp. RT):	5.02 (5.02) min					
[Calculated Conc]:	387.627					
Area:	1703397.6					
Sample Type:	(Standard)					

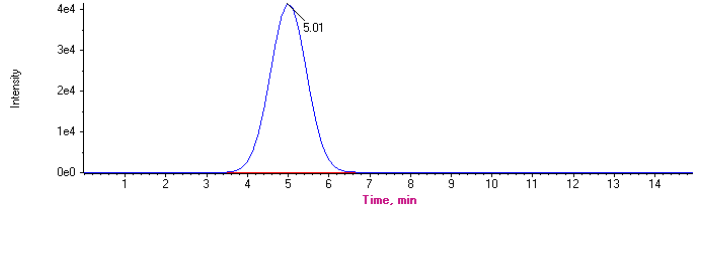
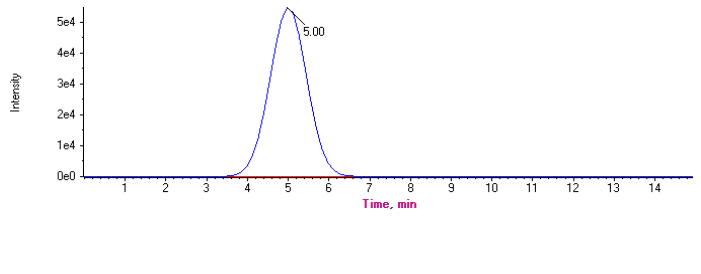
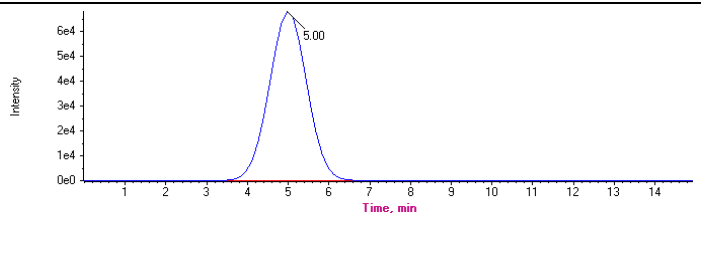
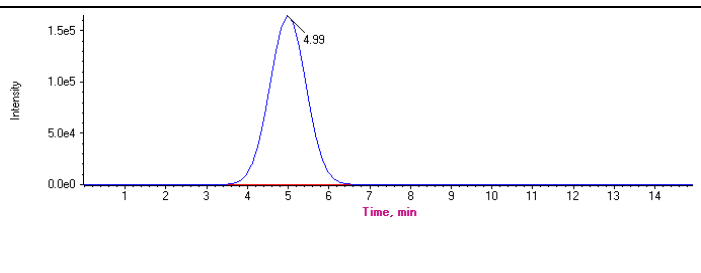
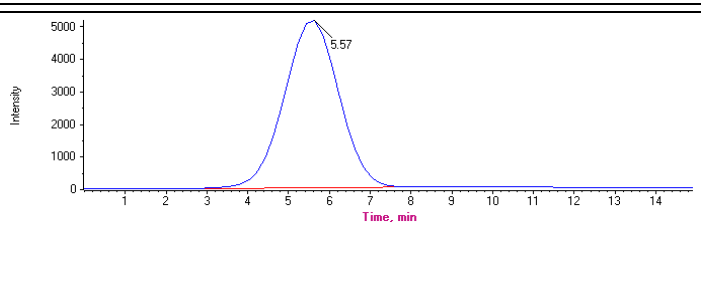
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 5.01 (5.01) min [Calculated Conc]: 619.581 Area: 2697094.8 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 5.00 (5.00) min [Calculated Conc]: 821.039 Area: 3560150.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 5.00 (5.00) min [Calculated Conc]: 1020.028 Area: 4412624.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 4.99 (4.99) min [Calculated Conc]: 2484.519 Area: 10686553.5 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 5.57 (5.57) min [Calculated Conc]: 102.128 Area: 480308.4 Sample (Unknown) Type:</p>	

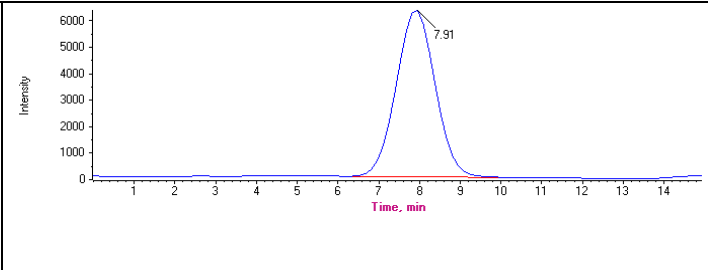
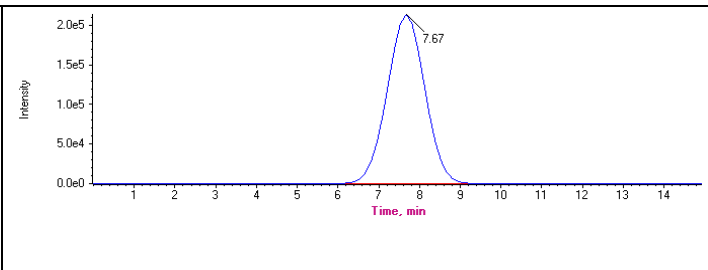
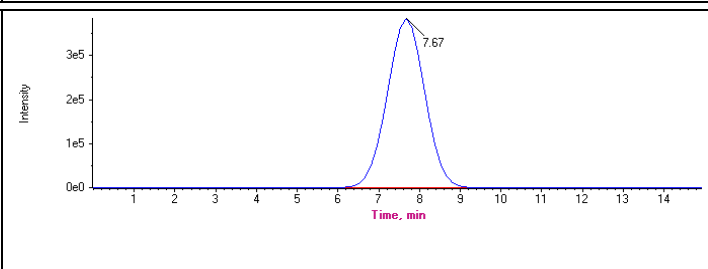
Figura 93

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido abscísico -1.

Analyte: Abscisico-1 (263.1 / 152.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLTLLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. ()	[Calculated Conc]. ()
100	Standard	4.181e+05	7.91	100.00	< 0
200	Standard	1.373e+07	7.67	200.00	119.805
400	Standard	2.467e+07	7.67	400.00	476.346
600	Standard	3.345e+07	7.67	600.00	762.282
800	Standard	4.052e+07	7.67	800.00	992.648
1000	Standard	4.855e+07	7.67	1000.00	1254.540
2500	Standard	8.089e+07	7.67	2500.00	2308.348
CARO-C-03	Unknown	8.324e+05	7.86	N/A	< 0

100 RT (Exp. RT): 7.91 (7.91) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 418121.8 Sample Type: (Standard)	
200 RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 119.805 Area: 13729582.2 Sample Type: (Standard)	
400 RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 476.346 Area: 24670959.8 Sample Type: (Standard)	

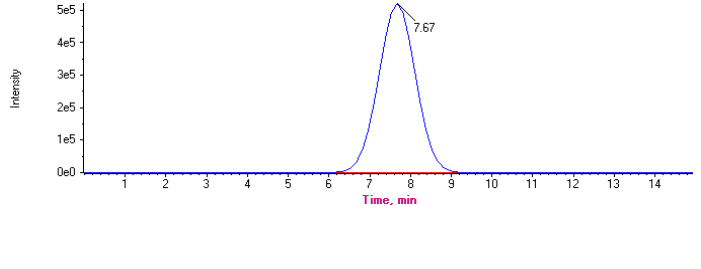
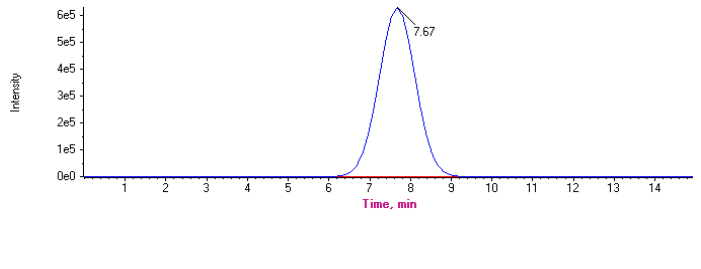
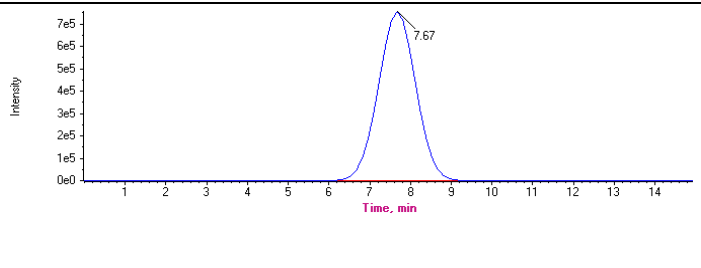
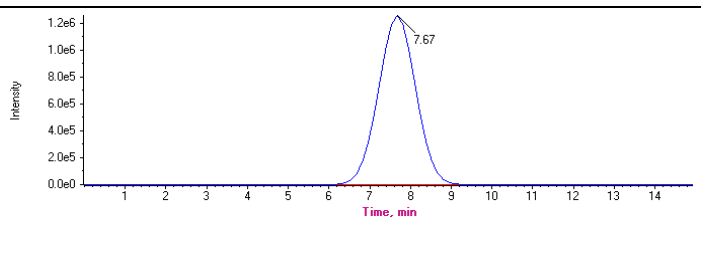
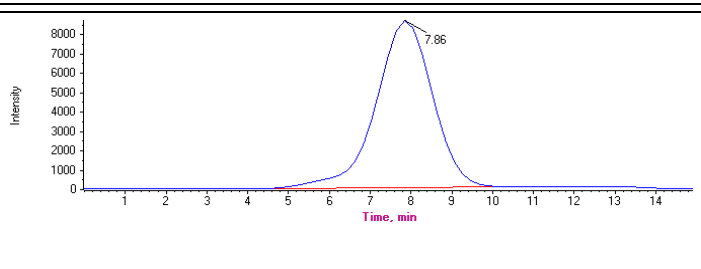
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 762.282 Area: 33445658.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 992.648 Area: 40515021.0 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 1254.540 Area: 48551848.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 2308.348 Area: 80890683.7 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 7.86 (7.86) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 832441.8 Sample (Unknown) Type:</p>	

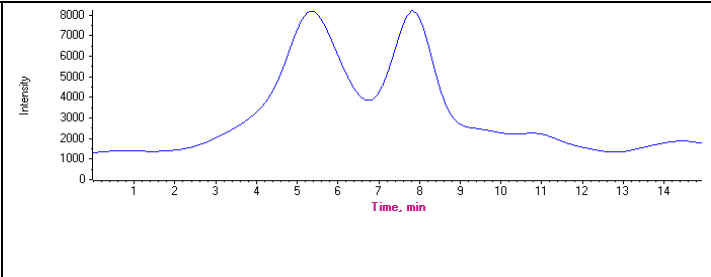
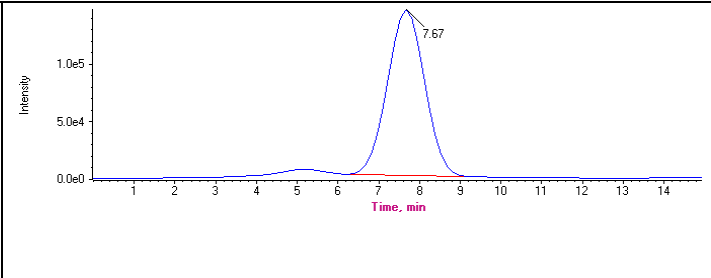
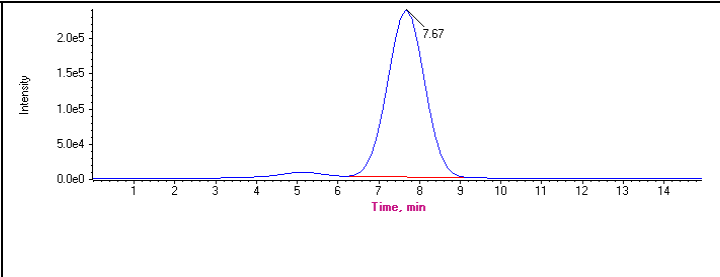
Figura 94

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de ácido abscísico -2.

Analyte: Abscisico-2 (263.1 / 219.0)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. ()	[Calculated Conc]. ()
100	Standard	N/A	N/A	100.00	N/A
200	Standard	9.158e+06	7.67	200.00	42.519
400	Standard	1.518e+07	7.67	400.00	310.834
600	Standard	2.387e+07	7.67	600.00	698.109
800	Standard	2.849e+07	7.67	800.00	903.521
1000	Standard	3.345e+07	7.67	1000.00	1124.708
2500	Standard	6.253e+07	7.67	2500.00	2420.309
CARO-C-03	Unknown	5.556e+05	7.85	N/A	< 0

100 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	N/A (1.76) min N/A N/A (Standard)	
200 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	7.67 (7.67) min 42.519 9158328.6 (Standard)	
400 RT (Exp. RT): [Calculated Conc]: Area: Sample Type:	7.67 (7.67) min 310.834 15181238.8 (Standard)	

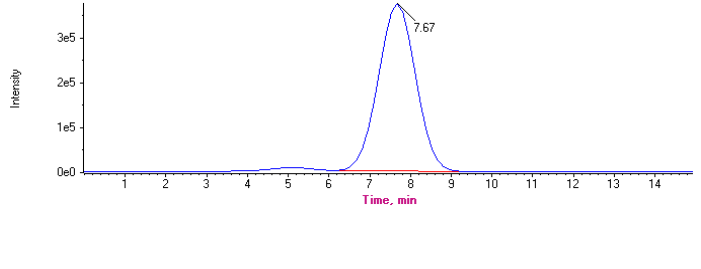
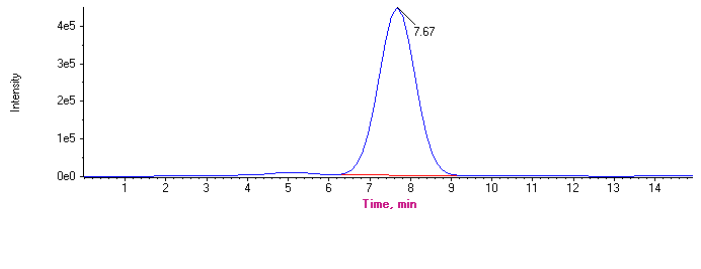
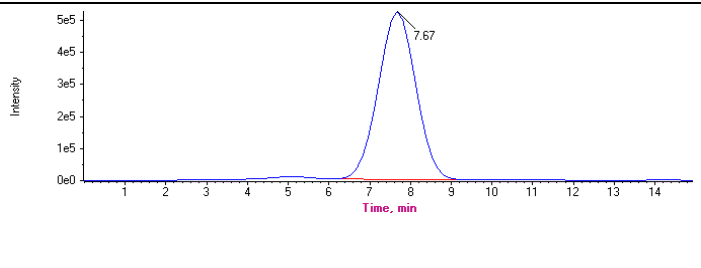
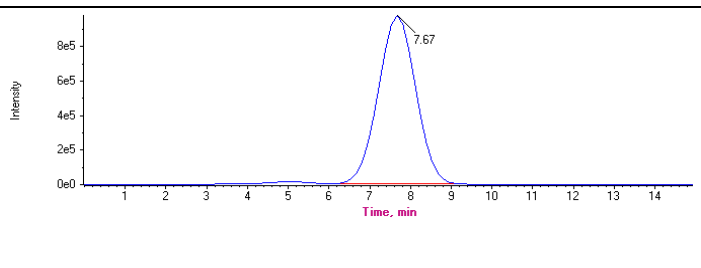
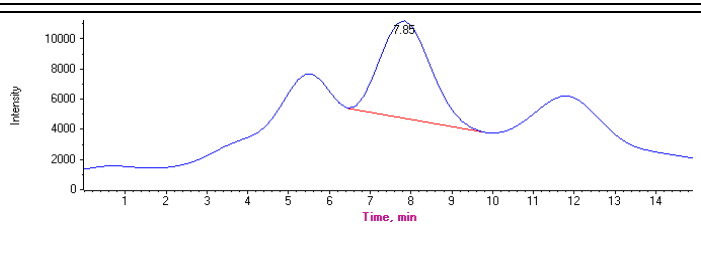
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 698.109 Area: 23874481.4 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 903.521 Area: 28485406.8 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 1124.708 Area: 33450449.8 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): 7.67 (7.67) min [Calculated Conc]: 2420.309 Area: 62533071.1 Sample (Standard) Type:</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 7.85 (7.85) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 555580.4 Sample (Unknown) Type:</p>	

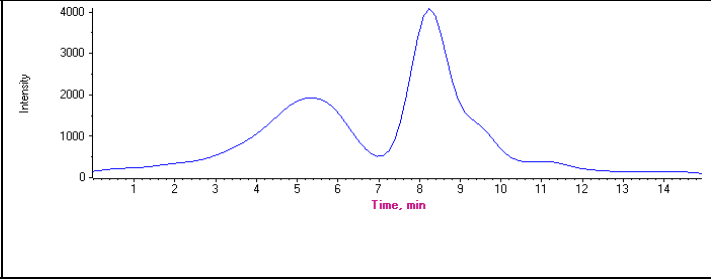
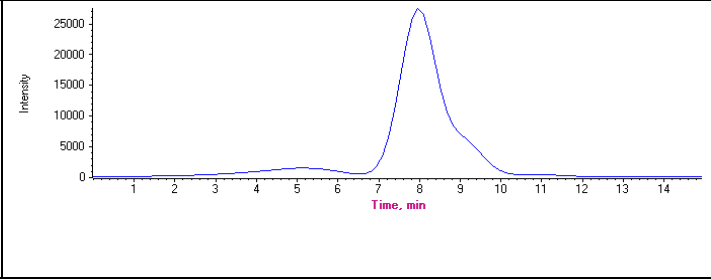
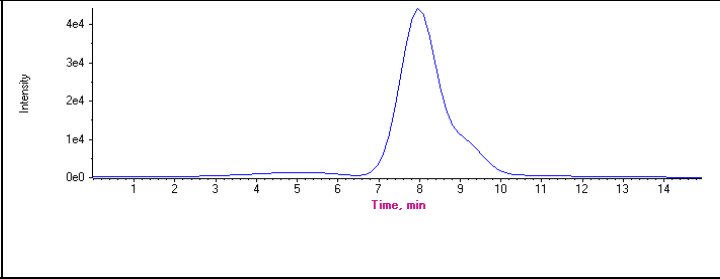
Figura 95

Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de Luteolina-2.

Analyte: Luteolina-2 (285.0 / 150.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLT\LLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	N/A	N/A	100.00	N/A
200	Standard	N/A	N/A	200.00	N/A
400	Standard	N/A	N/A	400.00	N/A
600	Standard	N/A	N/A	600.00	N/A
800	Standard	6.856e+06	7.98	800.00	<2 points
1000	Standard	N/A	N/A	1000.00	N/A
2500	Standard	N/A	N/A	2500.00	N/A
CARO-C-03	Unknown	2.435e+04	6.75	N/A	<2 points

100						
RT (Exp. RT):	N/A (6.41) min					
[Calculated Conc]:	N/A					
Area:	N/A					
Sample Type:	(Standard)					
200						
RT (Exp. RT):	N/A (6.41) min					
[Calculated Conc]:	N/A					
Area:	N/A					
Sample Type:	(Standard)					
400						
RT (Exp. RT):	N/A (6.41) min					
[Calculated Conc]:	N/A					
Area:	N/A					
Sample Type:	(Standard)					

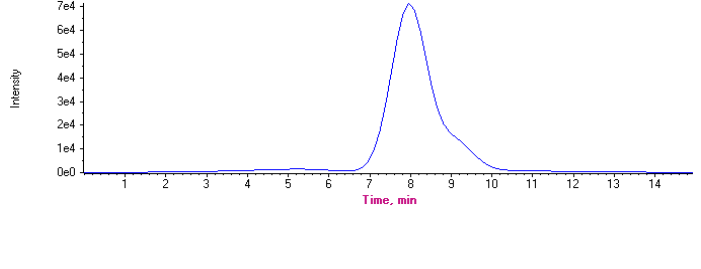
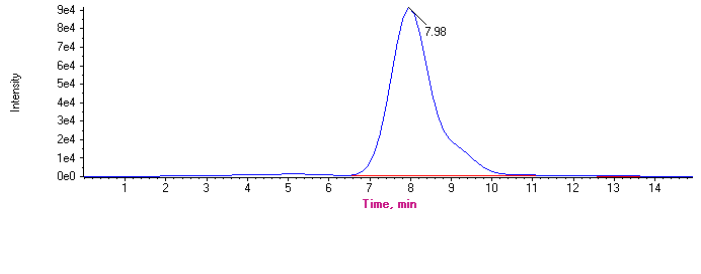
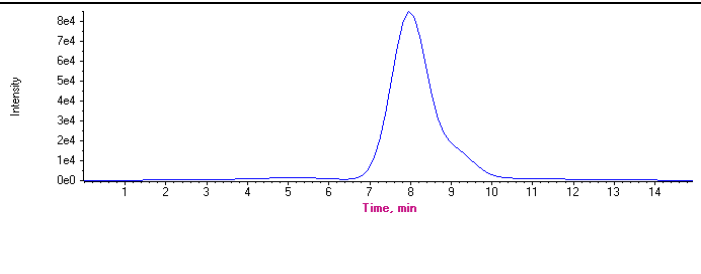
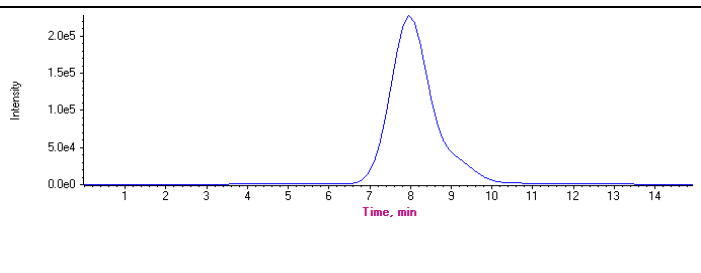
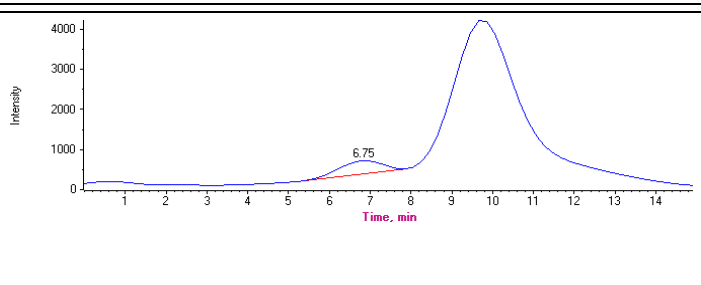
<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.41) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): 7.98 (7.98) min [Calculated Conc]: <2 points Area: 6856093.5 Sample Type: (Standard)</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.41) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.41) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 6.75 (6.41) min [Calculated Conc]: <2 points Area: 24353.0 Sample Type: (Unknown)</p>	

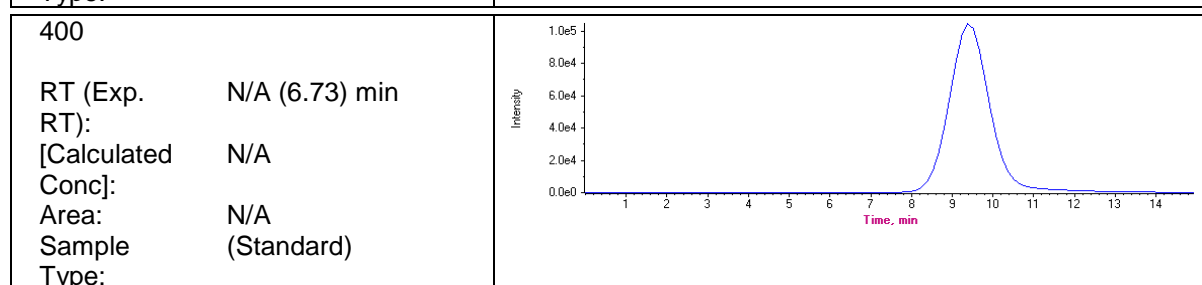
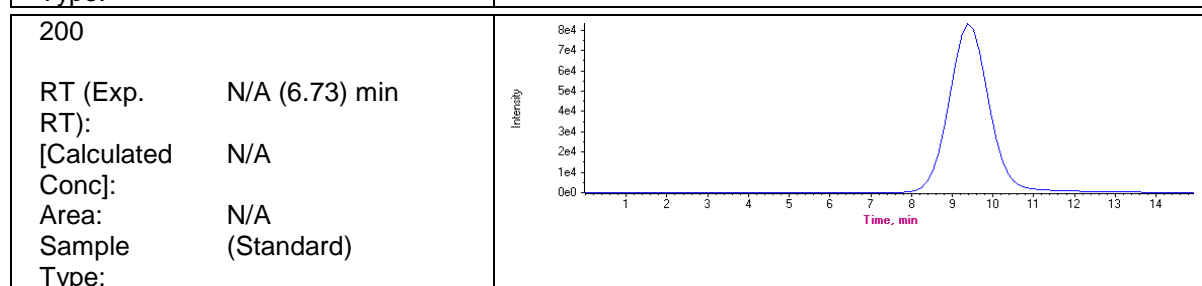
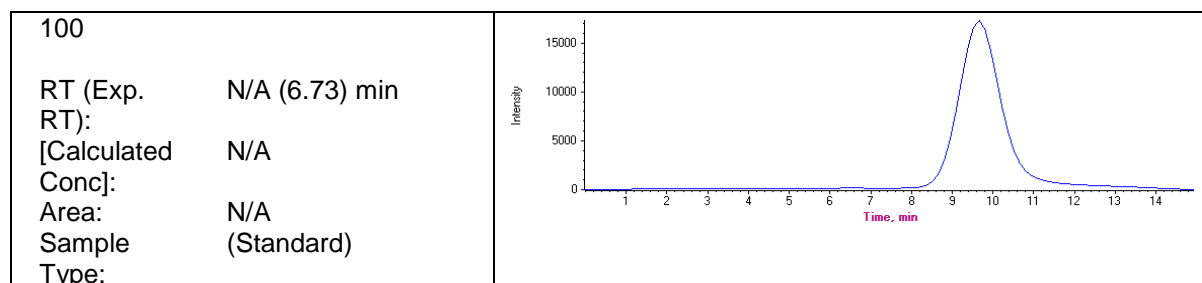
Figura 96

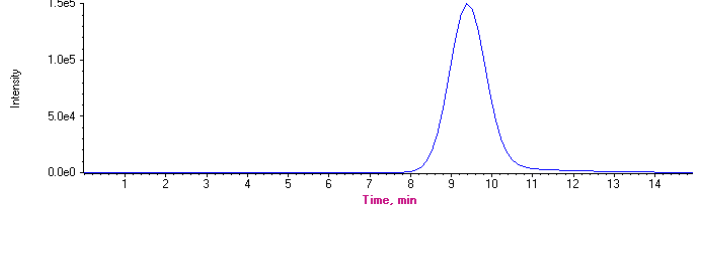
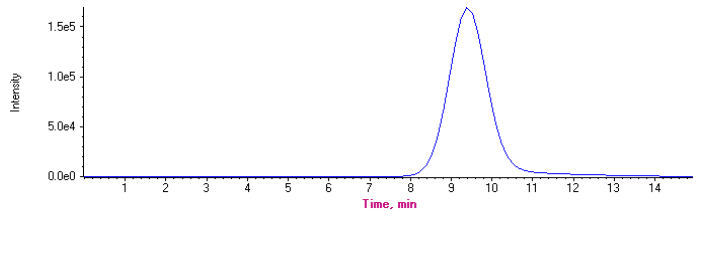
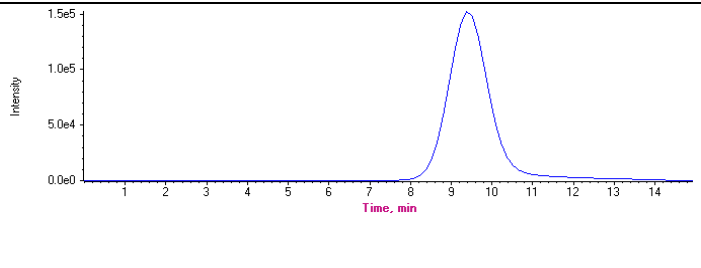
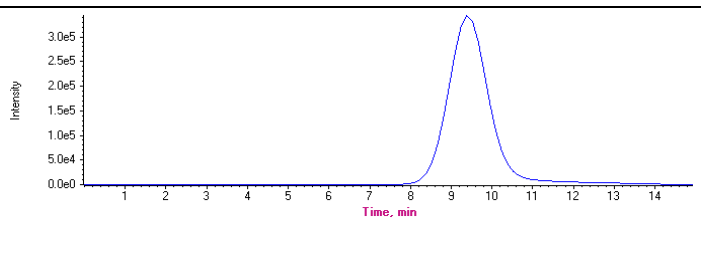
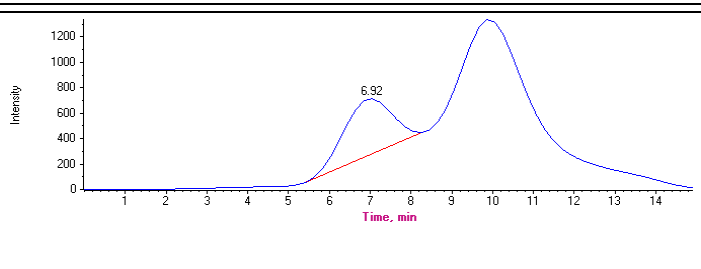
Cromatograma correspondiente a EA de cáscara verde de Solanum grandiflorum Ruiz & Pav con el estándar de Isorhamnetina -1.

Analyte: Isorhamnetina-1 (315.0 / 299.9)

Data File	M170322.wiff	Result Table	210422
Acquisition Date	3/17/2022 2:09:12 PM	Algorithm Used	MQ4
Acquisition Method	Phenol analysis	Instrument Name	Triple Quad 4500
Project	LLTLLT		

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
100	Standard	N/A	N/A	100.00	N/A
200	Standard	N/A	N/A	200.00	N/A
400	Standard	N/A	N/A	400.00	N/A
600	Standard	N/A	N/A	600.00	N/A
800	Standard	N/A	N/A	800.00	N/A
1000	Standard	N/A	N/A	1000.00	N/A
2500	Standard	N/A	N/A	2500.00	N/A
CARO-C-03	Unknown	3.605e+04	6.92	N/A	<2 points



<p>600</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.73) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>800</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.73) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>1000</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.73) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>2500</p> <p>RT (Exp. RT): N/A (6.73) min [Calculated Conc]: N/A Area: N/A Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CARO-C-03</p> <p>RT (Exp. RT): 6.92 (6.73) min [Calculated Conc]: <2 points Area: 36048.1 Sample Type: (Unknown)</p>	

Analizando los resultados obtenidos, se evidencia la identificación de ácidos fenólicos, siendo el ácido cafeico y ácido ferúlico los mayoritarios, seguidos del ácido siríntrico y ácido cumárico, también se pueden observar trazas de ácido abscísico, luteolina e isorhamnetina. En la Tabla 29 se realizó un resumen de los compuestos fenólicos identificados, la masa experimental, el tiempo de retención obtenido a partir de la cromatografía y la masa teórica reportada en la bibliografía.

Tabla 29

Compuestos fenólicos identificados en el análisis UHPLC-MS-MS

Analito	M/Z experimental	Transición (M/Z)	Tiempo de retención (min)	M/Z teórico
Ácido siríntrico	196.981	181.900	4.66	198.17 ¹
Ácido ferúlico	192.946	134.000	6.06	194.18 ²
Ácido cafeico	178.949	135.000	4.42	180.16 ³
Ácido cumárico	162.913	119.000	5.59	164.16 ⁴
Ácido abscísico	263.133	152.900	7.86	264.32 ⁵
Luteolina	285.022	150.900	6.75	286.24 ⁶
Isorhamnetina	314.957	299.900	6.92	316.26 ⁷

¹ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 10742, Syringic acid. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Syringic-acid>.

² National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 445858, Ferulic acid. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ferulic-acid>.

³ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 689043, Caffeic acid. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeic-acid>.

⁴ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 637542, 4-Hydroxycinnamic acid. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637542>.

⁵ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 643732, Abscisic acid. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Abscisic-acid>.

⁶ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5280445, Luteolin. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Luteolin>.

⁷ National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5281654, Isorhamnetin. Retrieved July 17, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isorhamnetin>.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los rendimientos obtenidos de los extractos a partir de semillas del fruto verde de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav fueron mayores en comparación de los extractos obtenidos a partir de cáscaras verdes, esto se debe a que las semillas contienen una gran cantidad de ácidos grasos (Li et al., 2020), y esto se refleja en que aproximadamente el 30% del peso en el extracto EP era aceite, una situación similar se observó en EC, en menor medida en EA. La ultracentrifugación realizada en la metodología II permitió eliminar el exceso de aceite debido a la presencia de una gran cantidad de ácidos grasos (Salinas-Sánchez et al., 2020; Valencia et al., 2020).

El tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos (EP, EC, EA y EE) identificó la presencia de compuestos polifenólicos, saponinas y flavonoides; los terpenoides fueron mayoritarios en los extractos EC y EA de semillas y cáscaras, sin embargo, en el EE de semillas no se observaron debido a que el tamizaje fitoquímico es un ensayo cualitativo (Lock, 2016) y es probable que los terpenoides se encuentren en muy pequeñas cantidades, no detectadas por reactivos empleados.

5.1. Metodología I

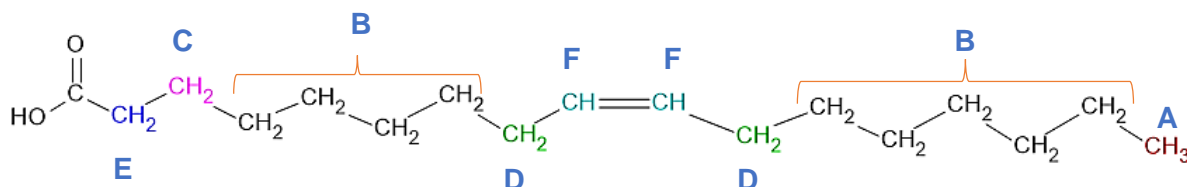
A. Fraccionamiento de EC y EA a partir de semillas obtenidas del fruto de la especie de *S. grandiflorum* Ruiz & Pav. Durante el primer fraccionamiento realizado a EC y EA, se pudo observar en las TLC manchas de tonalidad morada con el revelador vainillina-ácido fosfórico en el visible, según la literatura indica positivo para glucósidos triterpénicos y ácidos grasos (Wagner y Bladt, 1996), con luz UV de onda larga (365nm) se visualizaron manchas de tonalidad magenta-anaranjado indicando la posible presencia de esteroides o terpenoides (Lock, 2016), además, se observaron manchas azules, esto se debe a que el

revelador utilizado también da positivo a catequinas o lignanos que dan azul en ultravioleta (Fadle et al., 2018). Los valores de Rf obtenidos del análisis en TLC oscilaban entre 0.5 a 0.6, estos se encontraron en una zona característica de terpenoides, indicando su posible presencia (Fadle et al., 2018, 2019), de esta forma se pudieron agrupar las fracciones y sub-fracciones obtenidas.

En la TLC realizadas a las sub-fracciones de las semillas se pudo apreciar que Cs_{2.1} y Cs_{2.2} presentaron manchas similares entre sí con el mismo Rf. En el análisis RMN ¹H, se visualiza que Cs_{2.1} y Cs_{2.2} presentan señales muy similares entre sí. En el caso de Cs_{2.1} presentó 6 señales en total. La primera señal aparece de 0.81 a 0.99 ppm (A), es de hidrógenos metílicos (CH₃); la segunda señal, 1.22 a 1.27 ppm (B), de hidrógenos metilénicos (CH₂) de ácidos grasos; la tercera señal, 1.54 a 1.60 ppm (C), es de hidrógenos beta del grupo (CH₂CH₂CO) del ácido carboxílico; la cuarta señal, 2.01 a 2.03 ppm (D), de hidrógenos alílicos (-CH₂CH=CH-). La quinta señal, 2.23 a 2.26 ppm (E), es de los hidrógenos metílicos alfa, vecino al CO del ácido carboxílico (CH₂-CO) del ácido graso; la sexta señal, 5.30 a 5.34 ppm (F), es de hidrógenos olefínicos (HC=CH) (Tabla 24).

Figura 97

Estructura de ácido oleico identificado a partir de la sub-fracción Cs_{2.2}



Sin embargo, el espectro obtenido de RMN ¹H para la sub-fracción Cs_{2.2} presentó 6 señales en total. La primera señal aparece de 0.86 a 0.88 ppm (A), es de hidrógenos metílicos (CH₃); la segunda señal, 1.20 a 1.28 ppm (B), de hidrógenos metilénicos (CH₂) de ácidos

grasos; la tercera señal, 1.51 a 1.59 ppm (C), es de hidrógenos beta del grupo ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$) del ácido carboxílico; la cuarta señal, 2.01 a 2.04 ppm (D), de hidrógenos alílicos externos ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$). La quinta señal, 2.23 a 2.28 ppm (E) es de los hidrógenos metílicos alfa, vecino al CO del ácido carboxílico ($\text{CH}_2\text{-CO}$) carboxílico del ácido graso. Finalmente, una señal de 5.31 a 5.36 ppm (F), es de hidrógenos olefínicos ($\text{HC}=\text{CH}$) (Tabla 25), la similitud entre $\text{Cs}_{2.1}$ y $\text{Cs}_{2.2}$ en cuanto al número de señales es notoria, no obstante los desplazamientos obtenidos dentro de lo establecido en $\text{Cs}_{2.2}$ son similares a los reportados para el ácido oleico (Figura 97) (Lee et al., 2015).

Por su parte, la sub-fracción $\text{Cs}_{2.3}$ presenta un espectro totalmente diferente en comparación a $\text{Cs}_{2.1}$ y $\text{Cs}_{2.2}$. Las señales para $\text{Cs}_{2.3}$ fueron 6 señales en total. La primera señal aparece de 1.25 a 1.40 ppm (A), es de hidrógenos metílicos (CH_3); la segunda señal, 1.50 a 1.75 ppm (B), de hidrógeno que proviene de agua (H_2O); la tercera señal, 2.01 a 2.03 ppm (C), es de hidrógenos alílicos externos ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$); la cuarta señal, 3.5 ppm (D), es de hidrógenos de carbono con doble enlace; la quinta señal, 3.75 a 4.0 ppm (E), de hidrógenos alílicos internos ($=\text{HC}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$). Finalmente, la sexta señal, 4.03 a 4.25 ppm (F), es de hidrógenos olefínicos ($\text{HC}=\text{CH}$) (Tabla 26).

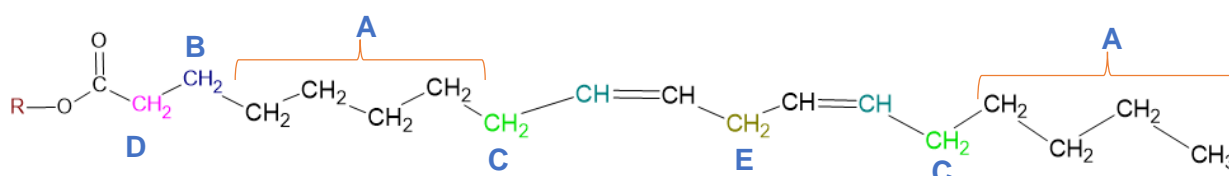
5.2. Metodología II

A. Fraccionamiento de EA a partir de la semilla (S) del fruto de la especie de *S. grandiflorum* Ruiz & Pav. El fraccionamiento a la muestra de EA – S fue realizado en el laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Chile, por cromatografía de exclusión molecular, usando Sephadex LH – 20 como fase estacionaria, se obtuvieron dos fracciones: SE – 1, (2.110 g) y SE – 2 (65.6 mg). Al realizar el análisis por TLC de la fracción SE – 1 usando revelador H_2SO_4 5%-metanol se observó la presencia manchas de tonalidad rosadas-lila, en el

visible, y anaranjadas en UV en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm) con mayor intensidad, por la tonalidad presentada se podría tratar de digalactosildiacylglicerol (DGDG) (Z. Wang & Benning, 2011), un lípido que ha sido reportado en otras especies de *Solanum* (X. Y. Xu et al., 2020). Además, durante el análisis por TLC se notó la presencia de manchas que aparecían al contacto directo con el revelador (H_2SO_4 5%-metanol) (J. U. N. Wang et al., 2015) siendo más brillantes y de color blanco en UV, esto sugiere la presencia de ácidos grasos (Y. Li et al., 2020).

Figura 98

Estructura esterificada del ácido linoleico identificado a partir de la sub-fracción SE – 2.1.

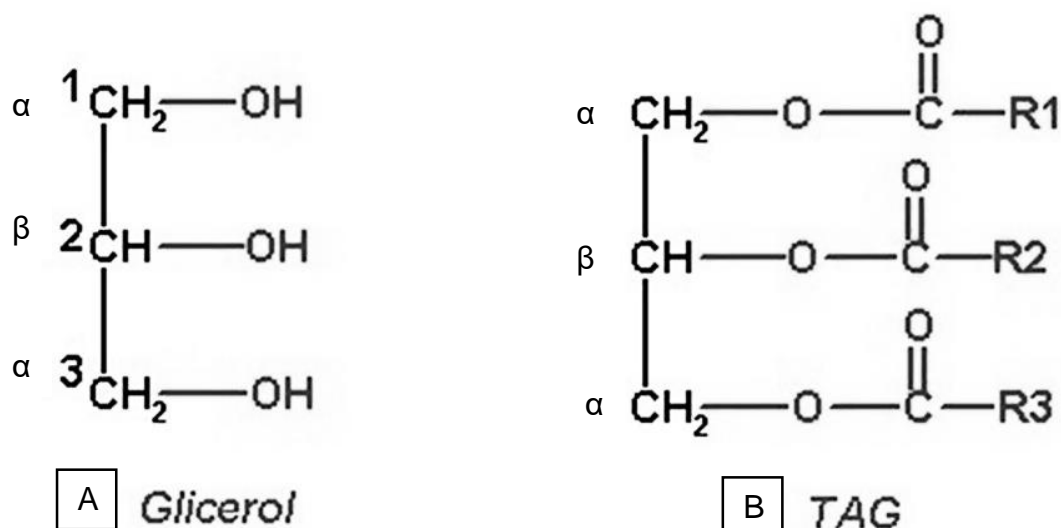


Posteriormente, al realizarse el fraccionamiento de SE – 2, se obtuvo la sub-fracción SE – 2.1, con peso de 30.1 mg. El espectro obtenido de RMN ^1H para esta sub-fracción presentó 8 señales en total, las primeras dos señales en la zona de 1.32 a 1.36 ppm (A), hidrógenos metilénicos de ácidos grasos (CH_2), segunda señal 1.56 a 1.58 (B), hidrógenos beta del grupo ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$) del ácido carboxílico. La tercera señal de 1.96 a 2.04 ppm (C), hidrógenos alílicos externos ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$), cuarta señal de 2.22 a 2.29 ppm (D), hidrógenos metílicos alfa vecino al CO del ácido carboxílico ($\text{CH}_2\text{-CO}$) del ácido graso, quinta señal de 2.73 a 2.75 ppm (E) hidrógenos alílicos internos ($=\text{HC-CH}_2\text{-CH}=\text{}$). En el rango de 4.07 a 4.13 ppm y 4.24 a 4.28 ppm se presentan dos señales (F y G), que representan a los hidrógenos alfa del glicerol, los cuales son los únicos parecidos entre sí, en cuanto al tamaño y forma. Por último, una señal en 5.27 a 5.33 ppm (H), hidrógeno β del glicerol, todos presentados en la Tabla 27 (Sartori, 2020; Sierra-Zurita D, Zuleta-Prada H, Aguirre-Mandujano E, Reyes-Trejo B, 2016). Según

las señales obtenidas y desplazamiento mostrado, podría tratarse del ácido linoleico (Figura 98) (Prema et al., 2015) que a su vez se encuentra esterificado al glicerol, siendo parte de uno (o más) de los ácidos grasos que conforman el triacilglicerol (Figura 99) (X. Y. Xu et al., 2020).

Figura 99

Estructura del glicerol (A) y de triacilglicerol (B)



B. Fraccionamiento de extracto de acetato de etilo (EA) y extracto clorofórmico (EC) a partir de la cáscara (C) del fruto de la especie de *S. grandiflorum* Ruiz & Pav. En el fraccionamiento de EA-C se obtuvo la fracción CE-1 (200 mg) la cual fue agrupada por análisis de cromatografía en capa fina (TLC) según su R_f . Los eluatos que conforman CE – 1, eran totalmente incoloros. Por análisis TLC solo se observaron manchas con tonalidades moradas después del uso del revelador (H_2SO_4 5%-metanol). En presencia de luz UV en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm) se podía apreciar una tonalidad azul brillante, este tipo de tonalidades se han reportado para esteroides (Bhawani et al., 2010).

Las sub-fracciones obtenidas a partir de CE – 1 son CE – 1.1, CE – 1.2 y CE – 1.3. La sub-fracción CE – 1.1 presenta características totalmente diferentes en comparación a CE – 1.2 y CE – 1.3, tales como manchas de tonalidad blanca en lámpara UV (254 y 365 nm), un menor

tamaño en las manchas con un Rf de 3.5, a diferencia de CE – 1.2 y CE – 1.3 que presentaron manchas de tonalidad azul brillante en lámpara UV (254 y 365 nm), un mayor tamaño de las manchas, con un Rf 1.5 para CE – 1.2 y 0.5 para CE – 1.3. Por el análisis de RMN ¹H, se determinó que el espectro obtenido para CE – 1.1 era similar a los reportados por plásticos (J. Yuan & Cheng, 2017), lo cual es frecuente debido al uso de Parafilm para proteger las muestras y aparece como interferencia en las muestras. Sin embargo, las sub-fracciones CE – 1.2 y CE – 1.3, presentaron espectros muy complejos, y debido a la poca cantidad de sub-fracción obtenida no se pudo continuar con la separación.

A partir del fraccionamiento de EC-C, se obtuvo la fracción CE-2 (60.5 mg), conseguida a partir de la agrupación por análisis de cromatografía en capa fina (TLC) según su Rf, presentó tonalidades moradas al usar revelador (H₂SO₄ 5%-metanol). En presencia de luz UV en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm), también se apreciaba una tonalidad azul brillante. Sin embargo, la fracción presentaba una gran cantidad de clorofila en comparación a EA-C.

De CE – 2, se obtuvo las sub-fracciones CE – 2.1 y CE – 2.2. La sub-fracción CE – 2.1 presentó un Rf de 2 y su análisis de RMN ¹H presentó cinco tipos de señales con desplazamientos a 3.33 ppm, 3.91 ppm, 4.86 ppm, 6.80 ppm y 7.45 ppm, siendo los dos últimos muy similares a los registrados para ácido cinámico (Hanai et al., 2001; Kalinowska et al., 2007; Schneider et al., 2003). Sin embargo, las señales se encontraban solapadas, confirmando la complejidad de la muestra. En el caso de la sub-fracción CE – 2.2, presentó un Rf de 1 y también presentó complejidad en la muestra y por la poca disponibilidad de la sub-fracción no se pudo continuar el fraccionamiento.

Debido a la complejidad mostrada en los espectros de RMN ^1H , se decidió llevar a UHPLC el extracto EA para identificar los posibles metabolitos de interés, esto se realizó con 31 estándares, logrando identificar positivamente en 7 estándares, a partir de este análisis se obtuvo como información el tiempo de retención y área del pico, con lo que se calculó la concentración, estos datos permitieron determinar los compuestos mayoritarios en la muestra EA.

Se identificaron: ácido cafeico (1808.711 mg/L) (Kim et al., 2019; Morais et al., 2015; B. Singh et al., 2020) y ácido ferúlico (1410.687 mg/L) (López-Cobo et al., 2014; B. Singh et al., 2020) como compuestos mayoritarios, seguidos de ácido siríngico (134.053 mg/L) (B. Singh et al., 2020; Witbooi et al., 2021) y ácido cumárico (102.128 mg/L) (Jakl et al., 2021; Pinela et al., 2019; Vaitkeviciene et al., 2020), estos compuestos fenólicos han sido reportados anteriormente en el género *Solanum*. Además, se encontraron trazas de ácido abscísico (Wu et al., 2018), luteolina (Silva et al., 2022) e isorhamnetina (B. Yuan et al., 2019), compuestos fenólicos que también han sido reportados en el género *Solanum* con anterioridad. Los resultados obtenidos por MS-MS fue corroborado utilizando tres decimales para ácido cumárico (Sinosaki et al., 2020), ácido cafeico (Seraglio et al., 2016), ácido ferúlico (Kaszuba et al., 2021) y ácido siríngico (Barnard et al., 2011).

VI. CONCLUSIONES

a. La especie *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav presenta metabolitos secundarios de interés, que, aunque ya han sido reportados en otras especies de *Solanum*, esta es la primera vez que se reportan en esta especie endémica de la Amazonia del Perú.

b. Los resultados obtenidos por tamizaje fitoquímico, TLC y RMN ^1H a partir del extracto de acetato de etilo de cáscaras del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. dieron positivos a la presencia de compuestos polifenólicos; también a la presencia de terpenoides, sin embargo, al encontrarse en baja concentración y en una muestra muy compleja, no fue posible aislarlos.

c. Las interferencias en el análisis como el exceso de aceite en las semillas y la clorofila en las cáscaras de fruto verde se pudieron eliminar por ultra centrifugación, cromatografía de exclusión molecular y cromatografía en columna al vacío.

d. Se identificaron ácido oleico y un triacilglicerol conformado por un ácido linoleico a partir del extracto acetato de etilo de semillas del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

e. Se identificaron ácidos fenólicos como: ácido cafeico, ácido siríngico, ácido ferúlico y ácido cumárico, como metabolitos mayoritarios a partir de EA de cáscaras del fruto de *S. grandiflorum* Ruiz & Pav. Además, se identificó ácido abscísico, luteolina e isorhamnetina como trazas.

f. Se identificó mediante el uso de RMN ^1H , la presencia de ácido linoleico en la sub-fracción obtenida SE – 2.1 proveniente de EA – S, formando parte de un triacilglicerol (TGA). Además, también se identificó la presencia de ácido oleico, a partir de la sub-fracción Cs_{2.2}. Ambos compuestos han sido reportados con anterioridad en el género *Solanum*.

g. Del análisis por UHPLC del extracto EA de cáscaras del fruto verde, se identificaron ácido cafeico, ácido siríngico, ácido ferúlico y ácido cumárico, como metabolitos mayoritarios en EA-C y ácido abscísico, luteolina e isorhamnetina como trazas.

VII. RECOMENDACIONES

a. Realizar un análisis usando el mesocarpio del fruto de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav, con el fin de determinar la presencia de metabolitos secundarios.

b. Realizar un análisis RMN ^{13}C a las sub-fracciones obtenidas a partir de EA-S.

VIII. REFERENCIAS

Adebo, O. A., & Medina-Meza, I. G. (2020). Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review. *Molecules*, 25(4), 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules25040927>

Adesina, J. M., & Rajashekar, Y. (2018). Phytochemical composition and insecticidal potentials of some plant aqueous extracts in suppressing *Podagrica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) infestation on Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). *Advances in Horticultural Science*, 32(1), 71–78. <https://doi.org/10.13128/ahs-21208>

Adeyemi, M. M. H. (2010). The potential of secondary metabolites in plant material as deterrents against insect pests: A review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(11), 243–246. <http://www.academicjournals.org/journal/AJPAC/article-abstract/B76CE2E2388>

Al Jitan, S., Alkhoori, S. A., & Yousef, L. F. (2018). Phenolic Acids From Plants: Extraction and Application to Human Health. In *Studies in Natural Products Chemistry* (1st ed., Vol. 58). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64056-7.00013-1>

Al Sinani, S. S. S., & Eltayeb, E. A. (2017). The steroidal glycoalkaloids solamargine and solasonine in *Solanum* plants. *South African Journal of Botany*, 112, 253–269. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.002>

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4(February), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>

Alarcón, H., Tolmos, M., Villacrés, N., & Huarote, E. (2021). Química Verde – Una Alternativa Eco-Amigable En La Obtención De Nanopartículas De Ag₀. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(3). <https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i3.354>

Alarcón, J., & Cespedes, C. L. (2015). Chemical constituents and biological activities of South American Rhamnaceae. *Phytochemistry Reviews*, 14(3), 389–401. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9404-6>

Albuquerque, B. R., Heleno, S. A. 8., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food and Function*, 12(1), 14–29. <https://doi.org/10.1039/d0fo02324h>

Alves, A. P. C., Corrêa, A. D., Alves, D. S., Saczk, A. A., Lino, J. B. R., & Carvalho, G. A. (2014). Toxicity of the phenolic extract from jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(2), 200–204. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000200011>

Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food and Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>

Amini, S. M., & Akbari, A. (2019). Metal nanoparticles synthesis through natural phenolic acids. *IET Nanobiotechnology*, 13(8), 771–777. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5386>

Anteparra, M. E., Vargas, K., & Granados, L. B. (2010). Primer registro para el Perú

del perforador del fruto de cocona *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Aporte Santiaguino*, 3(2), 171. <https://doi.org/10.32911/as.2010.v3.n2.436>

Araújo Bandeira, R., & Lima, R. A. (2013). Efeito do extrato etanólico dos frutos de *Solanum grandiflorum* Ruiz sobre *Fusarium oxysporum* Kühn in vitro. *Saúde e Pesquisa*, 6(1), 69–73.

Ávalos, A., & Elena, G. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca Biología Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145. <https://doi.org/1989-3620>

Backbone Taxonomy, G. (2021). *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. in GBIF Secretariat. GBIF Secretariat. <https://doi.org/10.15468/39omei>

Bahrami, M. N., Mikani, A., & Moharramipour, S. (2018). Effect of caffeic acid on feeding, α -amylase and protease activities and allatostatin-A content of Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pesticide Science*, 43(2), 73–78. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-086>

Barison, A., Da Silva, C. W. P., Campos, F. R., Simonelli, F., Lenz, C. A., & Ferreira, A. G. (2010). A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ^1H NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 48(8), 642–650. <https://doi.org/10.1002/mrc.2629>

Barnard, H., Dooley, A. N., Areshian, G., Gasparyan, B., & Faull, K. F. (2011). Chemical evidence for wine production around 4000 BCE in the Late Chalcolithic Near Eastern highlands. *Journal of Archaeological Science*, 38(5), 977–984. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.11.012>

Barros, R. P. C., Cunha, E. V. L. da, Catão, R. M. R., Scotti, L., Souza, M. S. R., Brás, A. A. Q., & Scotti, M. T. (2018). Virtual screening of secondary metabolites of the genus *Solanum* with potential antimicrobial activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 28(6), 686–691. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.08.003>

Benítez-Badillo, G., Hernández-Huerta, A., Equihua-Zamora, M., Pulido-Salas, M. T. P., Ibáñez-Bernal, S., & Martín Del Campo, L. M. (2010). Biodiversidad. *Gobierno Del Estado de Veracruz*, 41, 174–202.

Berestetskiy, A., & Hu, Q. (2021). The chemical ecology approach to reveal fungal metabolites for arthropod pest management. *Microorganisms*, 9(7), 1–25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071379>

Bezerra, A., Rodrigues, D. V., Oliveira, C. S., & Lima, R. A. (2013). IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PRESENTES NO EXTRATO ETANÓLICO DOS CAULES DE *Solanum grandiflorum* (SOLANACEAE) Resultados e Discussão. 64° Congresso Nacional de Botânica, 2013.

Bhawani, S. A., Sulaiman, O., Hashim, R., & Mohamad Ibrahim, M. N. (2010). Thin-layer chromatographic analysis of steroids: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3), 301–313. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v9i3.56293>

Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H. M., Chan, T. F., & Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and terpenoids in plants: Interactions with environment and insects. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms21197382>

Bonilla, H., Carbajal, Y., Gonzales, M., Vásquez, V., & López, A. (2019). Determination of the insecticide activity of the saponine of the quinoa (*Chenopodium quinoa*) in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Scientia Agropecuaria*, *10*(1), 39–45. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.01.04>

Bravo Velásquez, E. (2012). Apuntes sobre la biodiversidad del Ecuador. *Universidad Politécnica Salesiana*, *66*, 37–39.

Cai, C., Ma, J., Han, C., Jin, Y., Zhao, G., & He, X. (2019). Extraction and antioxidant activity of total triterpenoids in the mycelium of a medicinal fungus, *Sanghuangporus sanghuang*. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43886-0>

Celedon, J. M., & Bohlmann, J. (2019). Oleoresin defenses in conifers: chemical diversity, terpene synthases and limitations of oleoresin defense under climate change. *New Phytologist*, *224*(4), 1444–1463. <https://doi.org/10.1111/nph.15984>

Chevrette, J. (2013). *DICTIONARY OF TREES, Volume 2: South America* (Vol. 2).

Chianese, G., Golin-Pacheco, S. D., Taglialatela-Scafati, O., Collado, J. A., Munoz, E., Appendino, G., & Pollastro, F. (2019). Bioactive triterpenoids from the caffeine-rich plants guayusa and maté. *Food Research International*, *115*, 504–510. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.005>

Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparri, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P. P., Zhang, J., Lamas, L. B., Flórez, S. M., Toyos, P. A., Quiles, J. L., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, *23*(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>

Ciulu, M., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., & Segura-Carretero, A. (2018). Extraction and analysis of phenolic compounds in rice: A review. *Molecules*, *23*(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules23112890>

Costa Barros, R. P., Leitão da Cunha, E. V., Ramalho Catão, R. M., Scotti, L., Rocha Souza, M. S., Queiroz Brás, A. A., & Scotti, M. T. (2018). Virtual screening of secondary metabolites of the genus *Solanum* with potential antimicrobial activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, *28*(6), 686–691. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.08.003>

Creus, E. V. A. G. (2004). Compuestos fenólicos. *Offarm*, *23*, 80–84.

Cristina, A., & Lima, R. A. (2016). IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS NO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS E FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica Em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, *20*(1), 381–388. <https://doi.org/10.5902/2236117019537>

David, B., Wolfender, J. L., & Dias, D. A. (2015). The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, *14*(2), 299–315. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9367-z>

De Angelis Pereira, M. C., Carvalho, J. C. T., Lima, L. M., Caputo, L. R. G., Ferreira, L. R., Fiorini, J. E., & Bastos, J. K. (2003). Toxicity of a subchronic treatment with hydroalcoholic crude extract from *Solanum grandiflorum* (Ruiz et Pav) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *89*(1), 97–99. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00266-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00266-6)

De Geyter, E., Lambert, E., Geelen, D., & Smagghe, G. (2007). Novel Advances with Plant Saponins as Natural Insecticides to Control Pest Insects. *Pest Technology*, *1*(2), 96–105.

De la Cruz, P. (2004). Aprovechamiento Integral y Racional de la Tara. *Caesalpinia spinosa - Caesalpinia tinctoria*. An Integral and Rational Utility of Tara (*Caesalpinia spinosa – Caesalpinia tinctoria*). *Revista Del Instituto de Investigación FIGMMG*, 7, 64–73.

Dev, S., & Nagasampagi, B. A. (2018). *Handbook of Terpenoids, Volume I: Triterpenoids, Acyclic, Monocyclic, Bicyclic, Tricyclic and Tetracyclic Terpenoids*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781351072779>

Divekar, P. A., Narayana, S., Divekar, B. A., Kumar, R., Gadratagi, B. G., Ray, A., Singh, A. K., Rani, V., Singh, V., Singh, A. K., Kumar, A., Singh, R. P., Meena, R. S., & Behera, T. K. (2022). Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/ijms23052690>

E. Anteparra, M., Vargas y, K., B. Granados, L., Ríos, J. L., Xu, G. B., Xiao, Y. H., Zhang, Q. Y., Zhou, M., Liao, S. G., Connolly, J. D., Hill, R. a, Pérez, A. J., Pecio, Ł., Kowalczyk, M., Kontek, R., Gajek, G., Stopinsek, L., Mirt, I., Stochmal, A., ... Damak, M. (2018). Effects of triterpenes on the immune system. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.045>

Fadle, N., Mariod, A. A., Abdel, H., Ali, R., & Hasan, A. A. (2018). TLC and GC-MS analysis of fermented wood “Nikhra” petroleum ether fraction of Combretaceae spp. *Combretum hartmannianum* and *Terminalia laxiflora*. *Eurasian Journal of Forest Science*, 6(3), 1–7. <https://doi.org/10.31195/ejefjs.41711>

Fadle, N., Mariod, A. A., Abdel, H., Ali, R., & Hasan, A. A. (2019). TLC and GC-MS analysis of petroleum ether fraction of fermented wood “Nikhra” of *Acacia seyal*. *Eurasian Journal of Forest Science*. <https://doi.org/10.31195/ejefjs.472038>

Feki, H., Koubaa, I., & Damak, M. (2014). Secondary metabolites and antioxidant activity of seed extracts from *Solanum elaeagnifolium* Cav. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(5), 639–647. <https://doi.org/10.13171/mjc.2.5.2014.05.01.22>

Fekry, M. I., Ezzat, S. M., Salama, M. M., Alshehri, O. Y., & Al-Abd, A. M. (2019). Bioactive glycoalkaloides isolated from *Solanum melongena* fruit peels with potential anticancer properties against hepatocellular carcinoma cells. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36089-6>

Filho Mendes da Silva, C. A., Cavalcanti Menezes, A. C. F., Amorim Machado, C., Neves Pereira, R., & Neves Pereira, H. J. (2017). Produção de terpenoides com atividade antifungica frente à *Candida* sp. *Produção de Terpenoides Com Atividade Antifungica Frente à Candida SP*, 1–21.

Fonseca, A. S., Lima, R. A., Bastos, J. S. F., Viveiros, C. C. M., & Neto, M. F. (2013). Atividade Antifúngica do Extrato Etanólico dos Frutos de *Solanum grandiflorum* Sobre *Rhizoctonia solani* in vitro. *Saúde e Pesquisa*, 7(1), 2013. <https://doi.org/10.17765/1983-1870.2014v7n1p%p>

Friedman, M., Huang, V., Quiambao, Q., Noritake, S., Liu, J., Kwon, O., Chintalapati, S., Young, J., Levin, C. E., Tam, C., Cheng, L. W., & Land, K. M. (2018). Potato Peels and Their Bioactive Glycoalkaloids and Phenolic Compounds Inhibit the Growth of Pathogenic Trichomonads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(30), 7942–7947. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01726>

Gallegos-Flores, P. I., Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Meza-López, C., & Echevarría-Cháirez, F. (2019). Actividad Antibacteriana De Cinco Compuestos Terpenoides : Carvacrol , Limoneno , Linalool , α -Terpineno Y Timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22(July), 241–248.

Ghassam, B. J., Ghaffari, H., Sampath Kumara, K. K., Prakash, H. S., & Kini, K. R. (2012). Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective effect of *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav against CCl₄-induced oxidative stress in rats. *International Journal of Research in Phytochemistry & Pharmacology*, 2(4, Cop), 180–187. <http://ijrpp.pharmascope.org/jdownloads/Volume 2/Issue 4/5-180-187.pdf>

Govindarajan, P., & Chinnachamy, C. (2014). Phytochemical and therapeutic evaluation of leaf and in vitro derived callus and shoot of *Solanum trilobatum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(6), 2101–2107.

Hanai, K., Kuwae, A., Takai, T., & Senda, H. (2001). A comparative vibrational and NMR study of cis -cinnamic acid polymorphs and trans -cinnamic acid. *Spectrochimica Acta - Part A*, 57, 513–519.

Hasballah, K., Sarong, M., Rusly, R., Fitria, H., Maida, D. R., & Iqhrammullah, M. (2021). Antiproliferative activity of triterpenoid and steroid compounds from ethyl acetate extract of *calotropis gigantea* root bark against p388 murine leukemia cell lines. *Scientia Pharmaceutica*, 89(2). <https://doi.org/10.3390/scipharm89020021>

Herrera-Mayorga, V., Guerrero-Sánchez, J. A., Méndez-Álvarez, D., Paredes-Sánchez, F. A., Rodríguez-Duran, L. V., Niño-García, N., Paz-González, A. D., & Rivera, G. (2022). Insecticidal Activity of Organic Extracts of *Solidago graminifolia* and Its Main Metabolites (Quercetin and Chlorogenic Acid) against *Spodoptera frugiperda*: An In Vitro and In Silico Approach. *Molecules*, 27(10), 3325. <https://doi.org/10.3390/molecules27103325>

Hill, R. A., & Connolly, J. D. (2017). Triterpenoids. *Nat. Prod. Rep.*, 34, 90–122. <https://doi.org/10.1039/C6NP00094K>

Jakl, M., Kovač, I., Čavar Zeljković, S., & Jaklová Dytrtová, J. (2021). Triazole fungicides in soil affect the yield of fruit, green biomass, and phenolics production of *Solanum lycopersicum* L. *Food Chemistry*, 351(February). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129328>

Joshi, R. S., Wagh, T. P., Sharma, N., Mulani, F. A., Sonavane, U., Thulasiram, H. V., Joshi, R., Gupta, V. S., & Giri, A. P. (2014). Way toward “dietary pesticides”: Molecular investigation of insecticidal action of caffeic acid against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(45), 10847–10854. <https://doi.org/10.1021/jf503437r>

Kalebar, V. U., Hoskeri, J. H., Hiremath, S. V., Kalebar, R. V, Lc, K., Bs, A., & Mb, H. (2019). *Pharmacognostical and phytochemical analysis of Solanum macranthum (Dunal) Fruits*. 8(1), 284–290.

Kalinowska, M., Świsłocka, R., & Lewandowski, W. (2007). The spectroscopic (FT-IR, FT-Raman and ¹H, ¹³C NMR) and theoretical studies of cinnamic acid and alkali metal cinnamates. *Journal of Molecular Structure*, 834–836(SPEC. ISS.), 572–580. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2006.11.043>

Kaszuba, J., Kapusta, I., & Posadzka, Z. (2021). Content of phenolic acids in the grain of selected polish triticale cultivars and its products. *Molecules*, 26(3).

<https://doi.org/10.3390/molecules26030562>

Kaunda, J. S., & Zhang, Y. J. (2019). The Genus Solanum: An Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. In *Natural Products and Bioprospecting* (Vol. 9, Issue 2). Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6>

Kaushik, P. (2019). Genetic analysis for fruit phenolics content, flesh color, and browning related traits in eggplant (*Solanum melongena*). *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12). <https://doi.org/10.3390/ijms20122990>

Kim, J., Soh, S. Y., Bae, H., & Nam, S. Y. (2019a). Antioxidant and phenolic contents in potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and micropropagated potatoes. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0422-8>

Kim, J., Soh, S. Y., Bae, H., & Nam, S. Y. (2019b). Antioxidant and phenolic contents in potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and micropropagated potatoes. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0422-8>

Knapp, S. (2008). Lectotypification of Ruiz and Pavón's names in Solanum (Solanaceae). *Anales Del Jardín Botánico de Madrid*, 65(2), 307–329. <https://doi.org/10.3989/ajbm.2008.v65.i2.295>

Kumar, M., Tomar, M., Bhuyan, D. J., Punia, S., Grasso, S., Sá, A. G. A., Carciofi, B. A. M., Arrutia, F., Changan, S., Radha, Singh, S., Dhumal, S., Senapathy, M., Satankar, V., Anitha, T., Sharma, A., Pandiselvam, R., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seed: A review on bioactives and biomedical activities. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112018>

Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>

Kuraishi, S., Hashimoto, Y., Takiuchi, M., & Lima, D. de A. (1978). Stomatal Aperture of the Plants Grown in a Brazilian Desert, Caatinga. *Environ. Control in Biol.*, 16(4), 113–118.

Lavana, S. (1993). Floral anatomy of *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. indicates its specialized nature among Solanums. *Current Science Association*, 65(7), 567–569.

Lee, C. B., Kwak, H. S., Choi, E. H., Hong, T. E., Yoon, H., Lee, Y., Baik, K. Y., & Uhm, H. S. (2015). Traces of isotopic reactive species produced from a non-thermal plasma jet in bio-molecules. *New Journal of Physics*, 17(11), 113031. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/17/11/113031>

Leguía Aliaga, J. D., Villegas Quino, H., & Aliaga Lordemann, J. (2011). Deforestación en Bolivia: una aproximación espacial. *Revista Latinoamericana de Desarrollo Económico*, 15, 7–44.

Li, G., Kusari, S., Kusari, P., Kayser, O., & Spiteller, M. (2015). Endophytic Diaporthe sp. LG23 Produces a Potent Antibacterial Tetracyclic Triterpenoid. *Journal of Natural Products*, 78(8), 2128–2132. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00170>

Li, Y., Yuan, F., Wu, Y., Zhang, Y., Gao, B., & Yu, L. (2020). Triacylglycerols and fatty acid compositions of cucumber, tomato, pumpkin, and carrot seed oils by ultra-performance convergence chromatography combined with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Foods*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/foods9080970>

Lima, M. C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. D., & de Souza, E. L. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, *130*(December 2018), 259–270. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.025>

Lima, M. de A., Andreou, R., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2021). Supercritical carbon dioxide extraction of phenolic compounds from potato (*Solanum tuberosum*) peels. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(8). <https://doi.org/10.3390/app11083410>

Lima, R. A., & Ferreira Neto, M. (2014). EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *Solanum grandiflorum* RUIZ SOBRE *Fusarium oxysporum* KÜHN in vitro EFFECTS OF ETHANOL EXTRACT OF *Solanum grandiflorum* RUIZ FRUITS ON *Fusarium oxysporum* KÜHN in vitro. *Revista Saúde e Pesquisa*, *7*(1), 103–108.

Liu, K., Zhang, X., Xie, L., Deng, M., Chen, H., Song, J., Long, J., Li, X., & Luo, J. (2021). Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: Molecular mechanisms and therapeutic efficacy. *Pharmacological Research*, *164*(September 2020), 105373. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105373>

Lizcano, L. J., Bakkali, F., Begoña Ruiz-Larrea, M., & Ignacio Ruiz-Sanz, J. (2010). Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chemistry*, *119*(4), 1566–1570. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.043>

Lizcano, L. J., Vilorio-Bernal, M., Vicente, F., Berrueta, L. A., Gallo, B., Martínez-Cañamero, M., Ruiz-Larrea, M. B., & Ruiz-Sanz, J. I. (2012). Lipid oxidation inhibitory effects and phenolic composition of aqueous extracts from medicinal plants of Colombian Amazonia. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(5), 5454–5467. <https://doi.org/10.3390/ijms13055454>

Lock, O. R. (2016). *INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA: Métodos en el estudio de productos naturales*.

López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Cerretani, L., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Distribution of phenolic compounds and other polar compounds in the tuber of *Solanum tuberosum* L. by HPLC-DAD-q-TOF and study of their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, *36*(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.04.009>

Mak, Y. W., Chuah, L. O., Ahmad, R., & Bhat, R. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. *Journal of King Saud University - Science*, *25*(4), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2012.12.003>

Marques, T. R., Caetano, A. A., Alves, D. S., Ramos, V. de O., Simão, A. A., Carvalho, G. A., & Corrêa, A. D. (2016). *Malpighia emarginata* DC. Bagasse acetone extract: Phenolic compounds and their effect on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Chilean Journal of Agricultural Research*, *76*(1), 55–61. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100008>

Martin G., D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *9*(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>

Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>

Mashwani, Z. ur R., Khan, M. A., Khan, T., & Nadhman, A. (2016). Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.008>

Matsuba, Y., Zi, J., Jones, A. D., Peters, R. J., & Pichersky, E. (2015). Biosynthesis of the diterpenoid lycosantalanol via neryleryl diphosphate in *Solanum lycopersicum*. *PLoS ONE*, 10(3), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119302>

Melanie, M., Miranti, M., Kasmara, H., Malini, D. M., Husodo, T., Panatarani, C., Joni, I. M., & Hermawan, W. (2022). Nanotechnology-Based Bioactive Antifeedant for Plant Protection. *Nanomaterials*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/nano12040630>

Mena, L., Tamargo, B., Salas, E., Plaza, L. E., Blanco, Y., Otero, A., & Sierra, G. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(1), 106–116. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Mierzejewska, E., Tołoczko, W., & Urbaniak, M. (2022). The effects of syringic acid on the properties of MCPA-contaminated soil and the growth of two cucurbit species. *International Journal of Phytoremediation*, 24(2), 205–214. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1932727>

Milagros, L., & Benítez, C. (2014). Taxonomía de *Solanum* L. sección *crinitum* (whalen) child (solanaceae) en Venezuela. *ERNSTIA*, 24(1), 1–23.

Morais, M. G., Da Costa, G. A. F., Aleixo, Á. A., De Oliveira, G. T., Alves, L. F., Duarte-Almeida, J. M., Ferreira, J. M. S., & Dos Santos Lima, L. A. R. (2015). Antioxidant, antibacterial and cytotoxic potential of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). *Natural Product Research*, 29(5), 480–483. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.951930>

Mostacero, J. (2017). Rol de la biodiversidad: Importancia alimenticia para el desarrollo del Perú. *Rev. Investig. Univ. Le Cordon Bleu*, 4(1), 63–70.

Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., & Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Biopesticides: An option for the biological pest control. *Ra Ximhai*, 8(3), 17–29.

Nobsathian, S., Ruttanaphan, T., & Bullangpoti, V. (2019). Insecticidal Effects of Triterpene Glycosides Extracted from *Holothuria atra* (Echinodermata: Holothuroidea) Against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(4), 1683–1687. <https://doi.org/10.1093/jee/toz075>

Okokon, J. E., Davies, K. O., Amazu, L. U., & Umoh, E. E. (2017). Anti-inflammatory activity of leaf extract of *Solanum anomalum*. *Journal of Herbal Drugs*, 7(4), 243–249.

Okokon, J. E., Opara, K. N., & Azare, B. A. (2016). Anti malarial Activity of Leaf Extract of *Solanum anomalum* (Solanaceae). *Nigerian Journal of Pharmaceutical and Applied Science Research*, 5(1), 1–6.

Orozco, C. I., Alba, A., Beltrán, G., Orejuela, A., Sarmiento, Y., & Vélez, J. M. (2015).

Solanum grandiflorum Ruiz & Pav. Catálogo de Plantas y Líquenes de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>

Patzke, H., & Schieber, A. (2018). Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate - ferulic acid as a natural pesticide against *Botrytis cinerea*. *Food Research International*, 113(March), 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.062>

Pereira, A. P. A., Angolini, C. F. F., Paulino, B. N., Lauretti, L. B. C., Orlando, E. A., Silva, J. G. S., Neri-Numa, I. A., Souza, J. D. R. P., Pallone, J. A. L., Eberlin, M. N., & Pastore, G. M. (2018). A comprehensive characterization of *Solanum lycocarpum* St. Hill and *Solanum oocarpum* Sendtn: Chemical composition and antioxidant properties. *Food Research International*, #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.054>

Pereira, A. P. A., Angolini, C. F. F., Paulino, B. N., Lauretti, L. B. C., Orlando, E. A., Silva, J. G. S., Neri-Numa, I. A., Souza, J. D. R. P., Pallone, J. A. L., Eberlin, M. N., & Pastore, G. M. (2019). A comprehensive characterization of *Solanum lycocarpum* St. Hill and *Solanum oocarpum* Sendtn: Chemical composition and antioxidant properties. *Food Research International*, 124, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.054>

Pérez, A. J., Pecio, Ł., Kowalczyk, M., Kontek, R., Gajek, G., Stopinsek, L., Mirt, I., Stochmal, A., & Oleszek, W. (2017). Cytotoxic triterpenoids isolated from sweet chestnut heartwood (*Castanea sativa*) and their health benefits implication. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 863–870. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.03.049>

Piao, X.-M., Chung, J.-W., Lee, G.-A., Lee, J.-R., Cho, G.-T., Lee, H.-S., Ma, K.-H., Guo, J., Kim, H. S., & Lee, S.-Y. (2014). Variation in Antioxidant Activity and Flavonoid Aglycones in Eggplant (*Solanum melongena* L.) Germplasm. *Plant Breeding and Biotechnology*, 2(4), 396–403. <https://doi.org/10.9787/pbb.2014.2.4.396>

Pinela, J., Montoya, C., Carvalho, A. M., Martins, V., Rocha, F., Barata, A. M., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phenolic composition and antioxidant properties of ex-situ conserved tomato (*Solanum lycopersicum* L.) germplasm. *Food Research International*, 125(March), 108545. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108545>

Prema, D., Turner, T. D., Jensen, J., Pilfold, J. L., Church, J. S., Donkor, K. K., & Cinel, B. (2015). Rapid determination of total conjugated linoleic acid concentrations in beef by 1H NMR spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.017>

Pulgar Vidal, J. (2014). Las ocho regiones naturales del Perú. *Terra Brasilis*, 3. <https://doi.org/10.4000/terrabrasilis.1027>

Punia, A., Chauhan, N. S., Singh, D., Kesavan, A. K., Kaur, S., & Sohal, S. K. (2021). Effect of gallic acid on the larvae of *Spodoptera litura* and its parasitoid *Bracon hebetor*. *Scientific Reports*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80232-1>

Quiroz, S., Cespedes, C. L., Alderete, J. B., & Alarcon, J. (2015). Ceanothane and oleanane-type triterpenes from *Talguenea quinquenervia* have insecticidal activity against *Cydia pomonella*, *Tenebrio molitor* and *Drosophila melanogaster*. *Industrial Crops and Products*, 74, 759–766. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.003>

Rahimi, S., Kim, J., Mijakovic, I., Jung, K. H., Choi, G., Kim, S. C., & Kim, Y. J.

(2019). Triterpenoid-biosynthetic UDP-glycosyltransferases from plants. *Biotechnology Advances*, 37(7), 107394. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.04.016>

Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>

Ramos, A. C., & De Oliveira, R. R. (2016). One-step separation of terpenoids from leaves extracts of *Solanum cernuum* by high-performance countercurrent chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 39(1), 8–12. <https://doi.org/10.1080/10826076.2015.1115767>

Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, 136(April), 109298. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>

Rattan, R., Reddy, S. G. E., Dolma, S. K. irt., Fozdar, B. I. nde., Gautam, V., Sharma, R., & Sharma, U. (2015). Triterpenoid Saponins from *Clematis graveolens* and Evaluation of their Insecticidal Activities. *Natural Product Communications*, 10(9), 1525–1528. <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000909>

Rattan, R. S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 29(9), 913–920. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008>

Ren, X., Li, X., Yin, L., Jiang, D., & Hu, D. (2020). Design, Synthesis, Antiviral Bioactivity, and Mechanism of the Ferulic Acid Ester-Containing Sulfonamide Moiety. *ACS Omega*, 5(31), 19721–19726. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02421>

Ríos, J. L. (2010). Effects of triterpenes on the immune system. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.045>

Robinson, M. M., & Zhang, X. (2011). Traditional medicines: Global situation, issues and challenges. *The World Medicines Situation 2011, 3rd Edition*, 1–14.

Rodrigues, D. V. (2014). Estudo Fitoquímico e o Efeito do Extrato Etanólico das Folhas de *Solanum grandiflorum* Ruiz Sobre *Candida albicans* in vitro/PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT FROM THE LEAVES OF *Solanum grandiflorum* RUIZ ON *Candida*... *Saúde e Pesquisa*, 7(2).

Roumy, V., Ruiz, L., Ruiz Macedo, J. C., Gutierrez-Choquevilca, A. L., Samaillie, J., Encinas, L. A., Mesia, W. R., Ricopa Cotrina, H. E., Rivière, C., Sähpaz, S., Bordage, S., Garçon, G., Dubuisson, J., Anthérieu, S., Seron, K., & Hennebelle, T. (2020). Viral hepatitis in the Peruvian Amazon: Ethnomedical context and phytomedical resource. *Journal of Ethnopharmacology*, 255(March), 112735. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112735>

Roumy, V., Ruiz Macedo, J. C., Bonneau, N., Samaillie, J., Azaroual, N., Encinas, L. A., Rivière, C., Hennebelle, T., Sähpaz, S., Antherieu, S., Pinçon, C., Neut, C., Siah, A., Gutierrez-Choquevilca, A. L., & Ruiz, L. (2020). Plant therapy in the Peruvian Amazon (Loreto) in case of infectious diseases and its antimicrobial evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 249, 112411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112411>

Salinas-Sánchez, D. O., Peña-Chora, G., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., Hernández-Velázquez, V. M., Tagle, L. J., & Sotelo-Leyva, C. (2020). Efecto insecticida de una fracción de acetato de etilo de *Serjania schideana* (Sapindaceae) contra *Melanaphis*

sacchari Zehntner (Hemiptera Aphididae). *Acta Agrícola y Pecuaria*, 6(1), E0061013. <https://doi.org/https://doi.org/10.30973/aap/2020.6.0061013>

Särkinen, T., Baden, M., Gonzáles, P., Cueva, M., Giacomini, L. L., Spooner, D. M., Simon, R., Juárez, H., Nina, P., Molina, J., Knapp, S., Botanic, R., Edinburgh, G., Row, I., Edinburgh, E. H., & Kingdom, U. (2015). Listado anotado de Solanum L. (Solanaceae) en el Perú. *Revista Peruana de Biología*, 22(1), 3–62.

Sartori, A. (2020). *E-BOOK - TOPICOS ESPECIAIS DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO*.

Schneider, B., Gershenzon, J., Graser, G., Hölscher, D., & Schmitt, B. (2003). One-dimensional ¹³C NMR and HPLC-1H NMR techniques for observing carbon-13 and deuterium labelling in biosynthetic studies Bernd. *Phytochemistry Reviews*, 2, 31–43. <https://doi.org/10.1023/B>

Seraglio, S. K. T., Valse, A. C., Daguer, H., Bergamo, G., Azevedo, M. S., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2016). Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. *Food Research International*, 87, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.019>

Shah, S. R., Ukaegbu, C. I., Hamid, H. A., & Alara, O. R. (2018). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the stems of *Flammulina velutipes* and *Hypsizygus tessellatus* (white and brown var.) extracted with different solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1947–1961. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9810-8>

Shen, J., & Shao, X. (2005). A comparison of accelerated solvent extraction, Soxhlet extraction, and ultrasonic-assisted extraction for analysis of terpenoids and sterols in tobacco. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383(6), 1003–1008. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0078-6>

Sierra-Zurita D, Zuleta-Prada H, Aguirre-Mandujano E, Reyes-Trejo B, G.-R. D. (2016). Estudio fitoquímico y actividad antioxidante del extracto metanólico de *Jiotilla* (*Escontria chiotilla*). *Química, Biología y Agronomía. Handbook T-I*, 7–20.

Silva-Beltrán, N. P., Chaidez-Quiroz, C., López-Cuevas, O., Ruiz-Cruz, S., López-Mata, M. A., Del-Toro-sánchez, C. L., Marquez-Rios, E., & Ornelas-Paz, J. D. J. (2017). Phenolic compounds of potato peel extracts: Their antioxidant activity and protection against human enteric viruses. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(2), 234–241. <https://doi.org/10.4014/jmb.1606.06007>

Silva Montoya, M. I. (2017). *Plan De Negocios Para La Producción Y Comercialización De Aceites Esenciales Naturales En Base a Plantas Nativas De La Región Del Cusco-Perú*.

Silva, T. M. S., Camara, C. A., & Fátima Agra, M. (2022). Flavonoid Aglycones in Species of Solanum. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 32, 201–210.

Singh, B., & Kaur, A. (2018). Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.077>

Singh, B., Singh, J., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2020). Phenolic compounds in potato (*Solanum tuberosum* L.) peel and their health-promoting activities. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2273–2281. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14361>

Singh, R. K. (2016). Plants of Associated Botanic Garden, Botanical Survey of India, Central Regional Centre, Allahabad. In *Journal of Non-Timber Forest Products* (Vol. 23, pp. 37–54).

Sinosaki, N. B. M., Tonin, A. P. P., Ribeiro, M. A. S., Polisel, C. B., Roberto, S. B., da Silveira, R., Visentainer, J. V., Santos, O. O., & Meurer, E. C. (2020). Structural study of phenolic acids by triple quadrupole mass spectrometry with electrospray ionization in negative mode and H/D isotopic exchange. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(2), 402–408. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190197>

Sonawane, P. D., Heinig, U., Panda, S., Gilboa, N. S., Yona, M., Pradeep Kumar, S., Alkan, N., Unger, T., Bocobza, S., Pliner, M., Malitsky, S., Tkachev, M., Meir, S., Rogachev, I., & Aharoni, A. (2018). Short-chain dehydrogenase/reductase governs steroidal specialized metabolites structural diversity and toxicity in the genus *Solanum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23), E5419–E5428. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804835115>

Soto Vásquez, M. R. (2014). Estudio fitoquímico de las hojas, flores y frutos de *Solanum multifidum* Lam. y *Lycianthes lycioides* (L.) Hassl. (Solanaceae) procedentes del Cerro Campana, Región La Libertad-Perú. *Arnaldoa*, 21(1), 91–104.

Su, Q., Zhou, Z., Zhang, J., Shi, C., Zhang, G., Jin, Z., Wang, W., & Li, C. (2018). Effect of plant secondary metabolites on common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomological Research*, 48(1), 18–26. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12238>

Suri Appa Rao, M., Suresh, G., Ashok Yadav, P., Rajendra Prasad, K., Usha Rani, P., Venkata Rao, C., & Suresh Babu, K. (2015). Piscidinols H-L, apotirucallane triterpenes from the leaves of *Walsura trifoliata* and their insecticidal activity. *Tetrahedron*, 71(9), 1431–1437. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.01.011>

Tang, X., Zhang, C., Chen, M., Xue, Y., Liu, T., & Xue, W. (2020). Synthesis and antiviral activity of novel myricetin derivatives containing ferulic acid amide scaffolds. *New Journal of Chemistry*, 44(6), 2374–2379. <https://doi.org/10.1039/c9nj05867b>

Tarkowská, D., & Strnad, M. (2018). Isoprenoid-derived plant signaling molecules: biosynthesis and biological importance. *Planta*, 247(5), 1051–1066. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2878-x>

Tropicos.org. (2019). *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. Missouri Botanical Garden.

Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3), 93. <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>

Uieda, W., & Vasconcellos-Neto, J. (1985). Dispersão de *Solanum* spp. (Solanaceae) por morcegos, na região de Manaus, AM, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 2(7), 449–458. <https://doi.org/10.1590/s0101-81751984000300006>

Urbaniak, M., Mierzejewska, E., & Tankiewicz, M. (2019). The stimulating role of

syringic acid, a plant secondary metabolite, in the microbial degradation of structurally-related herbicide, MCPA. *PeerJ*, 7(e6745). <https://doi.org/10.7717/peerj.6745>

Vaitkeviciene, N., Kulaitiene, J., Jariene, E., Levickiene, D., Danillcenko, H., Srednicka-Tober, D., Rembiałkowska, E., & Hallmann, E. (2020). Characterization of bioactive compounds in colored potato (*solanum tuberosum* l.) cultivars grown with conventional, organic, and biodynamic methods. *Sustainability (Switzerland)*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/su12072701>

Valencia, D., Omar, E., Puente, R., Peralta, L., Alberto, M., Mazón-López, S. R., & Ortega-García, J. (2020). *Summary: Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Profile of Fatty Acids in Mesquite Seed Oil* (Vol. 70).

Villa, F., & León, N. (2016). Ácidos Fenólicos Salvado de Maíz y Salvado de Trigo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7), 43–50. www.ujat.mx/era

Vossen, J. H., Jo, K.-R., & Vosman, B. (2014). Genomics of plant genetic resources. *Genomics of Plant Genetic Resources*, 2, 1–515. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7575-6>

Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2018). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>

Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis, Thin Layer Chromatography Atlas*.

Wang, J. U. N., Wu, W., Wang, X., Wang, M. I. N., & Wu, F. (2015). An effective GC method for the determination of the fatty acid composition in silkworm pupae oil using a two-step methylation process. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80(1), 9–20. <https://doi.org/10.2298/JSC140401073W>

Wang, Z., & Benning, C. (2011). Arabidopsis thaliana polar glycerolipid profiling by thin layer chromatography (TLC) coupled with gas-liquid chromatography (GLC). *Journal of Visualized Experiments*, 49, 2–7. <https://doi.org/10.3791/2518>

Witbooi, H., Bvenura, C., Reid, A. M., Lall, N., Oguntibeju, O. O., & Kambizi, L. (2021). The potential effect of elevated root zone temperature on the concentration of chlorogenic, caffeic, and ferulic acids and the biological activity of some pigmented *solanum tuberosum* l. Cultivar extracts. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/app11156971>

Wu, Q., Tao, X., Ai, X., Luo, Z., Mao, L., Ying, T., & Li, L. (2018). Contribution of abscisic acid to aromatic volatiles in cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during postharvest ripening. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130(May), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.039>

Xu, G. B., Xiao, Y. H., Zhang, Q. Y., Zhou, M., & Liao, S. G. (2018). Hepatoprotective natural triterpenoids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 145, 691–716. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.011>

Xu, X. Y., Akbar, S., Shrestha, P., Venugoban, L., Devilla, R., Hussain, D., Lee, J., Rug, M., Tian, L., Vanhercke, T., Singh, S. P., Li, Z., Sharp, P. J., & Liu, Q. (2020). A Synergistic Genetic Engineering Strategy Induced Triacylglycerol Accumulation in Potato

(*Solanum tuberosum*) Leaf. *Frontiers in Plant Science*, 11(March), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00215>

Yadav, V. R., Prasad, S., Sung, B., Kannappan, R., & Aggarwal, B. B. (2010). Targeting inflammatory pathways by triterpenoids for prevention and treatment of cancer. *Toxins*, 2(10), 2428–2466. <https://doi.org/10.3390/toxins2102428>

Yang, B. Y., Yin, X., Liu, Y., Sun, Y., Guan, W., Zhou, Y. Y., & Kuang, H. X. (2018). Terpenes and lignans from the roots of *Solanum melongena* L. *Natural Product Research*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1533828>

Yang, C., Marillonnet, S., & Tissier, A. (2021). The scarecrow-like transcription factor SISCL3 regulates volatile terpene biosynthesis and glandular trichome size in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Journal*, 107(4), 1102–1118. <https://doi.org/10.1111/tpj.15371>

Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3). <https://doi.org/10.1177/1934578X20903555>

Yuan, B., Byrnes, D. R., Dinssa, F. F., Simon, J. E., & Wu, Q. (2019). Identification of Polyphenols, Glycoalkaloids, and Saponins in *Solanum scabrum* Berries Using HPLC-UV/Vis-MS. *Journal of Food Science*, 84(2), 235–243. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14424>

Yuan, J., & Cheng, B. (2017). A Strategy for Nonmigrating Highly Plasticized PVC. *Scientific Reports*, 7(1), 2–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10159-7>

Zárate-Martínez, W., González-Morales, S., Ramírez-Godina, F., Robledo-Olivo, A., & Juárez-Maldonado, A. (2021). Effect of phenolic acids on the antioxidant system of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agronomy Mesoamerican*, 32(3), 854–868. <https://doi.org/10.15517/AM.V32I3.45101>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Zhao, D. K., Zhao, Y., Chen, S. Y., & Kennelly, E. J. (2021). *Solanum* steroidal glycoalkaloids: Structural diversity, biological activities, and biosynthesis. *Natural Product Reports*, 38(8), 1423–1444. <https://doi.org/10.1039/d1np00001b>

Zuñe Da Silva, L. F. (2016). Diversidad de la Familia Solanaceae en dos áreas naturales protegidas del. *Rev. Ciencia, Tecnología y Humanidades*, 7(1), 11–24.

IX. ANEXOS

Anexo A: Constancia taxonómica de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
 FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
 Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA)
 Estación Experimental Pucallpa



"Año de la lucha contra la Corrupción e Impunidad"

HERBARIO REGIONAL DE UCAYALI IVITA PUCALLPA HRUIP

CONSTANCIA

Por el presente dejo constancia que las muestras botánicas presentada por el **Proyecto de Investigación Básica N° 397 – 2019 – FONDECYT - CONCYTEC**, pertenece a la especie: ***Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.**

Clase: Equisetopsida
 Sub clase: Magnoliidae
 Orden: Solanales
 Familia: Solanaceae
 Género: Solanum
 Especie: ***Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.**
 N.V.: Sicaquito

Se expide la presente constancia para los fines convenientes del solicitante.

Pucallpa 16 de octubre del 2020



Dra. Zoyta Mirella Clavo Peralta
 Responsable del Herbario Regional de Ucayali – IVITA Pucallpa
 Registro CBP No. 1187